

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
ALIMENTOS**

Valéria Maria Limberger

**EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA E PRODUÇÃO DE
XAROPE DE MALTOSE A PARTIR DO AMIDO RESIDUAL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutor em Ciência dos Alimentos.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alicia de Francisco

Florianópolis, SC
2012

Valéria Maria Limberger

EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA E PRODUÇÃO DE XAROPE DE MALTOSE A PARTIR DO AMIDO RESIDUAL

Este Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “Doutor”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós- Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 23 de fevereiro de 2012.

Prof^a. Dr^a. Roseane Fett
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Alicia de Francisco
Orientadora
UFSC

Prof^a. Dr^a. Maria Victória Eiras Grossmann
UEL

Dr^a. Martha Zavariz de Miranda
EMBRAPA

Prof^a. Dr^a. Edna Regina Amante
UFSC

Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto
UFSC

*Dedico esse trabalho ao meu
esposo Estevão que, por acreditar em
mim, deixou tudo para trás e veio em
busca desta conquista comigo.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho com oportunidades e pessoas que permitiram que eu chegasse até aqui, e também pelos obstáculos, que mostram que sempre temos força para superá-los e nos fazem crescer.

Ao meu esposo, pelo amor incondicional, paciência e compreensão.

A toda minha família, pelo amor, união, princípios e valores a mim ensinados. Meus pais Alcina e Lotário, pela vida, amor e apoio em todas as minhas decisões. Minha irmã, Valquíria, pela amizade, conselhos, companheirismo e apoio.

À minha orientadora, Alicia, pelas oportunidades, confiança e amizade.

São muitos os que fazem ou fizeram parte do laboratório de cereais. Portanto, agradeço a toda “família” do CERES, pelo apoio em momentos difíceis e a alegria dos momentos de descontração.

Aos colegas dos demais laboratórios, afinal, somos todos parte de uma grande equipe.

À Carol e à Aline, que prestaram grande ajuda durante o desenvolvimento do trabalho.

Às minhas amigas Paula e Juci que, de perto ou de longe, sempre estiveram presentes.

A todos os professores da pós-graduação, em especial Pedro e Edna, pelo auxílio fundamental no desenvolvimento deste trabalho e pela participação na banca.

À professora Dra. Maria Victória, por sua grande contribuição como relatora e membro da banca.

À Dra. Martha, pela participação como membro da banca.

Ao professor Dr. Paulo J. Ogliari, pelo valioso auxílio com a estatística.

Aos funcionários do departamento, sempre solícitos e dispostos a ajudar.

À SL Alimentos, pelo fornecimento da matéria-prima e ao Thomaz, pelos conselhos e ensinamentos.

A FAPESC pelo financiamento do projeto.

A CAPES, pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pela estrutura física e profissional oferecida para minha formação.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meu sincero reconhecimento e agradecimento.

LIMBERGER, V. M. Extração de β -glucanas de cevada e produção de xarope de maltose a partir do amido residual. 2012. 136 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

A cevada ocupa a quarta posição em produção de cereais no mundo. Porém, tem sido pouco utilizada na indústria de alimentos, sendo destinada, em sua maioria, para alimentação animal e produção de malte cervejeiro. No entanto, a cevada possui alto teor de fibra alimentar e alta proporção de fibras solúveis, especialmente β -glucanas. Estudos têm demonstrado que as β -glucanas possuem efeitos fisiológicos benéficos à saúde. Além da importância nutricional, as β -glucanas apresentam importante papel tecnológico em alimentos processados. Portanto, a extração e comercialização das β -glucanas já é uma realidade no mercado internacional. Outro importante polissacarídeo da cevada é o amido; porém, esta origem tem sido pouco valorizada, sendo desprezado nos atuais processos de extração das β -glucanas. Considerando as inúmeras possibilidades de aplicação do amido na indústria de alimentos, é possível sugerir que este resíduo possui grande potencial tecnológico. Os amidos podem ser modificados para atender a demanda da indústria, sendo uma das modificações a hidrólise enzimática para produção de xaropes com alto teor de maltose. Assim, os objetivos deste estudo foram extrair as β -glucanas de cevada e produzir xarope de alto teor de maltose a partir do amido residual da extração. A farinha de cevada do cultivar BRS 195 foi utilizada no estudo. A sua composição química foi determinada, as β -glucanas e o amido foram extraídos, quantificados e parcialmente caracterizados. A fração amido residual foi hidrolisada enzimaticamente para a produção do xarope de maltose. Os resultados indicaram que a cevada utilizada no estudo é uma boa fonte de obtenção de β -glucanas e amido, devido ao elevado teor destes componentes, 4,74 % e 58,07 %, respectivamente, e ao reduzido teor de lipídios, 2,44 %. A extração de β -glucanas da cevada foi influenciada pela temperatura do processo, e a máxima concentração na fração extraída foi de 53%; porém, esta apresentou impurezas como amido e proteína. O comportamento reológico das β -glucanas extraídas foi semelhante ao de β -glucanas comerciais, tendo a viscosidade

diminuída com o aumento da temperatura. A semelhança com as β -glucanas comerciais também foi observada na espectroscopia no infravermelho, que confirmou a contaminação com amido. A microscopia eletrônica de varredura demonstrou imagens características de um produto esponjoso tanto para β -glucanas extraída, quanto para a comercial. A fração de amido residual apresentou 77% deste componente. As características de viscosidade (RVA) foram semelhantes ao amido disponibilizado comercialmente. A espectroscopia no infravermelho apresentou picos característicos de amido. Através da microscopia eletrônica de varredura foi possível visualizar grânulos de amido intactos, tipo A e tipo B. A hidrólise enzimática do amido resultou em alta produção de maltose e teve influencia linear da concentração de substrato, o que indica que a taxa de hidrólise para a produção de maltose diminui com o aumento da concentração do substrato. O teor de sólidos solúveis presentes na maltose está de acordo com a concentração inicial de amido utilizada no experimento. Considerando os resultados, pode-se concluir que o amido residual da extração das β -glucanas de cevada é uma excelente alternativa para o aproveitamento de resíduos, ampliando a utilização deste cereal na indústria de alimentos.

Palavras-chave: cevada, extração, β -glucanas, amido, hidrólise enzimática, maltose, resíduo.

LIMBERGER, V.M. Extraction of β -glucans from barley and the production of maltose syrup from starch waste. 2012. 136 p. Thesis (Ph.D. in Food Science). Program of Post Graduation in Food Science, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ABSTRACT

Barley is the fourth crop produced worldwide. However, it has been poorly utilized in the food industry, been left mostly for animal feed and malting barley. Nevertheless, barley is rich in dietary fiber and has a high content of soluble fibers, especially β -glucans. Several studies have demonstrated that the β -glucans have beneficial physiological effects on health. Beyond the nutritional importance, the β -glucans show an important technological role in processed foods. So, the extraction and commercialization of β -glucans is already a reality in the international market. Another important barley polysaccharide is the starch; however, this source has been undervalued, being despised in current processes for β -glucans extraction. Considering the unlimited possibilities for starch application in the food industry, it is possible to suggest that this residue has a high technological potential. The starches can be modified to meet the industrial expectations, including enzymatic hydrolysis to produce high maltose syrups. The objects of this study were to extract β -glucans barley and produce maltose syrup from residual starch. Barley flour from cultivar BRS 195 was used. Its chemical composition was determined, the β -glucans and starch were extracted, quantified and partially characterized. The residual starch fraction was enzymatically hidrolyzed to produce maltose syrup. The results showed that the barley used in the study was a good source of β -glucans and starch because of the high contents of these components, 4.74% and 58.07% respectively, and to the reduced fat content, 2.44%. The extraction of β -glucanas was influenced by process temperature; the maximum concentration in the extracted fraction was of 53%, however, this showed impurities like starch and protein. The rheological behavior of the extracted β -glucans was similar to that of commercial ones, with a decrease in viscosity upon increasing temperatures. The similarity with commercial β -glucans was also observed with infrared spectroscopy that confirmed starch contamination. Scanning electron microscopy showed images characteristic of a spongy product for the extracted β -glucans as

well as for the commercial ones. The residual starch fraction contained 77% of starch and its viscosity (RVA) was similar to the one of commercially available starch. The infrared spectroscopy, presented characteristic starch peaks. Through scanning electron microscopy it was possible to visualize intact starch granules A type and B type. The enzymatic hydrolysis of the starch resulted in a high maltose production and had linear influence of the substrate concentration, which means that the hydrolysis rate for maltose production decreases with the increase in the substrate's concentration. The amount of soluble solids present in the maltose is in agreement with the initial starch concentration used in the experiment. Considering the results, it can be concluded that the residual starch from the barley β -glucans extraction is an excellent alternative to make good use of waste products, widening the utilization of this cereal in the food industry.

Key-words: barley, extraction, β -glucans, starch, enzymatic hydrolysis, maltose, residues.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 Estrutura do grão de cevada	29
Figura 2 Estrutura química das β -1,3 e β -1,4 -D-glucanas	35
Figura 3 Estrutura química da amilose	39
Figura 4 Estrutura química da amilopectina	39
Figura 5 Estrutura química da maltose	44

CAPÍTULO 2

Figura 1 Efeito do pH e da temperatura no teor de β -glucanas extraídas da cevada	73
Figura 2 Relação da viscosidade aparente x taxa de deformação das β -glucanas extraídas (A) e das β -glucanas comerciais (B), em diferentes temperaturas	75
Figura 3 Espectro no infravermelho das β -glucanas extraídas e β -glucanas comerciais	79
Figura 4 Microscopia eletrônica de varredura das β -glucanas de cevada extraídas (A e B) e comerciais (C e D)	81

CAPÍTULO 3

Figura 1 Efeito do pH e da temperatura no teor de β -glucanas (A) e amido (B) extraídos da cevada	96
Figura 2 Viscograma do amido residual da extração de β -glucanas de cevada	97
Figura 3 Espectro no infravermelho do amido residual da extração de β -glucanas de cevada	98
Figura 4 Microscopia eletrônica de varredura do amido residual da extração de β -glucanas de cevada	99

CAPÍTULO 4

Figura 1 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada na produção de xarope de maltose	116
Figura 2 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada na DE	117
Figura 3 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada nos Sólidos Solúveis Totais	118
Figura 4 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise na eficiência da hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada	119

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 Categorias de xaropes de maltose comerciais com diferentes DE (Dextrose Equivalente).	45
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Variáveis do processo de extração e níveis de variação	70
Tabela 2 Composição da farinha de cevada	72
Tabela 3 Coeficientes de regressão para a extração de β -glucanas (em variáveis reais)	73
Tabela 4 Composição (%) da β -glucanas extraída e comercial	74
Tabela 5 Parâmetros reológicos obtidos utilizando o modelo da Lei da Potência ($\eta=\kappa(\dot{\gamma})^{n-1}$) e a viscosidade aparente das β -glucanas extraídas e comerciais, em diferentes temperaturas	77

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Variáveis do processo de extração e níveis de variação	94
---	----

CAPÍTULO 4

Tabela 1 Níveis de variação e variáveis do processo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada	112
Tabela 2 Composição da farinha de cevada e da fração amido extraída	112
Tabela 3 Delineamento central composto rotacional (DCCR) com dois fatores e os resultados dos ensaios para açúcares redutores em maltose, DE, SS totais e eficiência da hidrólise	114
Tabela 4 Coeficientes de regressão para variáveis reais das equações para modelo de segunda ordem	115
Tabela 5 Coeficientes de regressão para variáveis reais das equações ajustadas para modelo de regressão linear simples	115

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
ANOVA	análise de Variância
ARV	análise Rápida de Viscosidade (RVA - <i>Rapid Visco Analyser</i>)
DCCR	delineamento central composto rotacional
DE	dextrose equivalente
IR	espectroscopia do infravermelho (FT-IR – <i>Fourier Transform Infrared spectroscopy</i>)
GP	grau de polimerização
K	índice de consistência
KNU	Kilo Novo Unidades de α -amilase
MEV	microscopia eletrônica de varredura (SEM - <i>scanning electron microscopy</i>)
MSR	metodologia de superfície de resposta
n	índice de comportamento do fluxo
PNA	polissacarídeos não-amiláceos
SS	sólidos solúveis

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	23
CAPÍTULO 1	25
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
1.1 CEVADA	27
1.1.1 Características taxonômicas e produção	27
1.1.2 Estrutura do grão de cevada	27
1.1.3 Utilização da cevada	30
1.1.4 Composição química da cevada	30
1.1.4.1 Proteínas	30
1.1.4.2 Carboidratos	31
1.2 FIBRAS ALIMENTARES	32
1.2.1 Efeitos fisiológicos das fibras alimentares	33
1.3 β -GLUCANAS	34
1.3.1 Utilização das β -glucanas	36
1.3.2 Extração de β -glucanas	37
1.4 AMIDO	38
1.4.1 Utilização do amido	40
1.5 ENZIMAS E PRODUTOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO	42
1.5.1 α -amilase	42
1.5.2 β -amilase	43
1.5.3 Pululanase	43
1.6 XAROPE DE MALTOSE	44
1.6.1 Obtenção do xarope de maltose	45
REFERÊNCIAS	46
CAPÍTULO 2	63
2 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE β-GLUCANAS DE CEVADA	65
2.1 INTRODUÇÃO	66

2.2 MATERIAL E MÉTODOS	68
2.2.1 Amostra	68
2.2.2 Extração de β -glucanas	68
2.2.3 Análises químicas	69
2.2.4 Medidas reológicas	69
2.2.5 Espectroscopia no infravermelho	69
2.2.6 Microscopia eletrônica de varredura	70
2.2.7 Desenho experimental e análise estatística	70
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
2.3.1 Caracterização da farinha de cevada	71
2.3.2 Avaliação da extração de β -glucanas de cevada	72
2.3.3. Caracterização das β -glucanas extraídas	74
2.3.3.1 Análises químicas	74
2.3.3.2 Medidas Reológicas	75
2.3.3.3 Espectroscopia no infravermelho	78
2.3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura	80
2.4 CONCLUSÕES	82
REFERÊNCIAS	82

CAPÍTULO 3 89

3 EXTRAÇÃO DE B-GLUCANAS DE CEVADA E	
CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO AMIDO RESIDUAL	91
3.1 INTRODUÇÃO	92
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	93
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
3.4 CONCLUSÕES	99
REFERÊNCIAS	99

CAPÍTULO 4 103

4 AMIDO RESIDUAL DA EXTRAÇÃO DE β-GLUCANAS DE	
CEVADA NA PRODUÇÃO DE XAROPE DE MALTOSE	105
4.1 INTRODUÇÃO	106
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	109
4.2.1 Matéria-prima	109
4.2.2 Análises Químicas	109
4.2.3 Hidrólise enzimática do amido	110
4.2.4 Determinação de dextrose equivalente	110
4.2.5 Sólidos solúveis totais	111

4.2.4 Eficiência da hidrólise	111
4.2.6 Desenho experimental e análise estatística	111
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	112
4.3.1 Caracterização da amostra	112
4.3.2 Hidrólise enzimática do amido	113
4.4 CONCLUSÃO	121
REFERÊNCIAS	121
 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	 129
 6 ANEXOS	 131
6.1 ANEXO A - Fluxograma básico de moagem da farinha de cevada (SL Alimentos).	132
6.2 ANEXO B - Avaliação preliminar de extração de β -glucanas de cevada.	133
6.3 ANEXO C - Avaliação do tempo e da velocidade da centrifugação de extração de β -glucanas de cevada	135

INTRODUÇÃO

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) ocupa a quarta posição mundial na produção de cereais em quantidade produzida e área de cultivo (ARNGREN et al., 2011). A produção brasileira de cevada é de aproximadamente 295 mil toneladas (IBGE, 2011) e está concentrada na Região Sul do Brasil (EMBRAPA, 2011). A cevada tem sido pouco utilizada na indústria de alimentos, sendo destinada, em sua maioria, para alimentação animal e produção de malte cervejeiro (WÜRSCH; PI-SUNYER, 1997; ARNGREN et al., 2011). Porém, este cereal, juntamente com a aveia, destaca-se nutricionalmente, pois possui β -glucanas como maior constituinte de sua parede celular. Além das β -glucanas, o amido é um importante constituinte da cevada, pois normalmente representa mais da metade de sua composição (LI et al., 2001).

A crescente conscientização dos consumidores sobre a relação existente entre alimentação e saúde tem conduzido a indústria de alimentos a desenvolver produtos que aliem valor nutricional ao estilo de vida moderno. Muitas pesquisas estão focadas no desenvolvimento de produtos prontos ou de rápido preparo, como produtos com reduzidos teores de gordura e açúcares ou adição de componentes como fibras alimentares, entre outros (GEISE, 1992; ALEXANDER, 1995; GEISE, 1996; KHALIL, 2000; AIME et al., 2001; ERKAN et al., 2006; GALDEANO; GROSSMANN, 2006; LIMBERGER et al., 2008; YASHODA et al., 2008).

Seguindo esta tendência, são crescentes os estudos que buscam encontrar, desenvolver ou aperfeiçoar fontes de fibra alimentar, dentre elas, as β -glucanas (TEMELLI, 1997; DE SÁ; FRANCISCO; SOARES, 1998; WOOD, 2002; FUJITA; FIGUEROA, 2003; BURKUS; TEMELLI, 2005; BAIK; ULLRICH, 2008; RAGAEI et al., 2008).

Estudos sobre β -glucanas têm demonstrado múltiplos benefícios para a saúde humana, como a sua tendência para reduzir o início de câncer colorretal, a constipação, os níveis de glicose, insulina pós-prandial e do colesterol sanguíneo (NEWMAN; NEWMAN, 2006).

Além da importância nutricional, as β -glucanas apresentam papel tecnológico em alimentos processados, podendo ser utilizadas como espessante e estabilizante não calóricos; auxiliando na fabricação de queijos e sorvetes; substituindo gordura em produtos lácteos e de

confeitaria, formando géis e para desenvolvimento de produtos com alto teor de fibras alimentares (WÜRSH; PI-SINYER, 1997).

Considerando seus benefícios para a saúde, uma gama de alimentos funcionais contendo β -glucanas foram comercialmente introduzidos no mercado (BURKUS; TEMELLI, 2005). Assim, a demanda industrial para este composto natural de cereais está crescendo rapidamente e tem grande potencial para uso em alimentos.

Publicações têm demonstrado processos de extração de β -glucanas de aveia e cevada, visando aperfeiçoar os métodos para obter maior rendimento e pureza na extração (TEMELLI, 1997; VASANTHAN; TEMELLI, 2008).

Estudos utilizando cevada para alimentação humana são menos frequentes do que os da aveia. Porém, nos grãos de cevada, o teor de β -glucanas encontrado na literatura tem sido de 3,01 a 9,68% (FUJITA; FIGUEROA, 2003), valores superiores quando comparados aos de 2 a 6% de β -glucanas presentes na aveia (DE SÁ; FRANCISCO; SOARES, 1998).

Nas atuais tecnologias de extração de β -glucanas publicadas o amido é desprezado. No entanto, é possível sugerir que este resíduo tem potencial industrial, já que são inúmeras as possibilidades de utilização na tecnologia de alimentos, podendo atuar como agente de enchimento em embutidos cárneos, espessante na formação de géis, coadjuvante na estabilização de suspensões e de emulsões, e agente na elaboração de filmes para encapsulação de aromas (MOORE et al., 2005). Os amidos podem ser genética, física e quimicamente modificados para atender à demanda da indústria. Uma das modificações do amido é a hidrólise enzimática para produção de xaropes com alto teor de maltose, amplamente utilizado na indústria de alimentos, principalmente como adjuvante de malte na indústria cervejeira, pois torna a produção mais econômica (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998). Em virtude de suas características peculiares, o xarope com alto teor de maltose é utilizado em fermentações, panificação, bebidas e confeitaria (MALDONADO; LOPEZ, 1995).

Visando a ampliação da utilização da cevada na alimentação humana, este trabalho foi conduzido com os objetivos de extrair β -glucanas de cevada e produzir maltose a partir do amido residual da extração.

CAPÍTULO 1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 CEVADA

1.1.1 Características taxonômicas e produção

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é uma planta herbácea de ciclo anual, pertence à família *Poaceae*, à sub-família *Pooideae* e à tribo *Triticeae* (USDA, 2010). Sendo mencionado na Bíblia, é um dos mais antigos cereais cultivados (NEWMAN; NEWMAN, 2006). Estudos arqueológicos revelaram sua cultura cerca de 8000 a.C., no Irã (BOTHMER; JACOBSEN, 1985).

A cevada ocupa a quarta posição em produção de cereais no mundo em termos de quantidade produzida e área de cultivo (ARNGREN et al., 2011). A produção brasileira é de aproximadamente 295 mil toneladas (IBGE, 2011), concentrada na Região Sul do Brasil, com registros de cultivo também nos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo (EMBRAPA, 2011).

1.1.2 Estrutura do grão de cevada

Existem inúmeras variedades de cevada, que diferem entre si quanto à morfologia da planta, ao aspecto da espiga e às características fisiológicas (HOUGH, 1990). Assim, de forma geral, o grão de cevada pode ser caracterizado como tendo de 8 a 14 milímetros de comprimento, 1,5 a 4,5 milímetros de largura, peso de mil grãos médio de 35g (KENT, 1987) e formato alongado, parecido com um charuto (HOUGH; BRIGGS; STEVENS, 1975).

Estruturalmente, a cevada é composta de uma cariópside, uma única semente constituída por casca, pericarpo, gérmen e endosperma (HOSENEY, 1991; VAN DEN BOOM et al., 2006).

O pericarpo, composto por fibras, minerais e vitaminas do complexo B, é definido como sendo a parte exterior da semente, a parte mais resistente e que possui a função de proteção do grão (VAN DEN BOOM et al., 2006).

O gérmen está localizado na ligação terminal da cariópside, no lado dorsal do grão, é rico em sais minerais e vitaminas do complexo B (RAMUSSION, 1985).

O endosperma consiste em uma matriz proteica, onde estão incrustados grânulos de amido (HOSENEY, 1991), além de pequenas quantidades de minerais e vitaminas (ANDERSON; SMITH; GUSTAFSON, 1994).

Os grânulos de amido da cevada podem ser tipo A, grandes, com formato lenticular e diâmetro de 10 a 30 µm, ou tipo B, pequenos, com formato esférico e diâmetro medindo de 2 a 10µm (KENT, 1987; MACGREGOR; MORGAN, 1984).

Os grânulos de amido tipo A participam com mais do que 90% do volume amídico, enquanto que os grânulos de amido tipo B são mais numerosos em quantidade, acima de 95% (OSCARSSON; PARKKONEN; AUTIO, 1997).

Na região periférica do endosperma encontra-se uma camada constituída por células de pequeno tamanho, ricas em proteínas e isentas de grânulos de amido, denominada camada de aleurona (HOUGH, 1990).

A camada de aleurona, localizada nas duas ou três camadas mais externas do grão (HOSENEY, 1991), é constituída por parede celular grossa formada por arabinoxilana (85%), celulose (8%) e proteína (6%) (KENT, 1987).

A partir dos cortes longitudinal e transversal de um grão de cevada (Figura 1) observa-se o embrião, que está situado na parte arredondada ou dorsal do grão. Separando o embrião do depósito de nutrientes (endosperma), encontra-se uma estrutura denominada escutelo, que tem função secretora, permitindo a liberação de enzimas hidrolíticas do embrião ao endosperma amiláceo. A maior parte do endosperma está constituída por células de grande tamanho, providas de grânulos de amido, que estão recobertos por proteínas, e também com indícios de material lipídico (HOUGH, 1990).

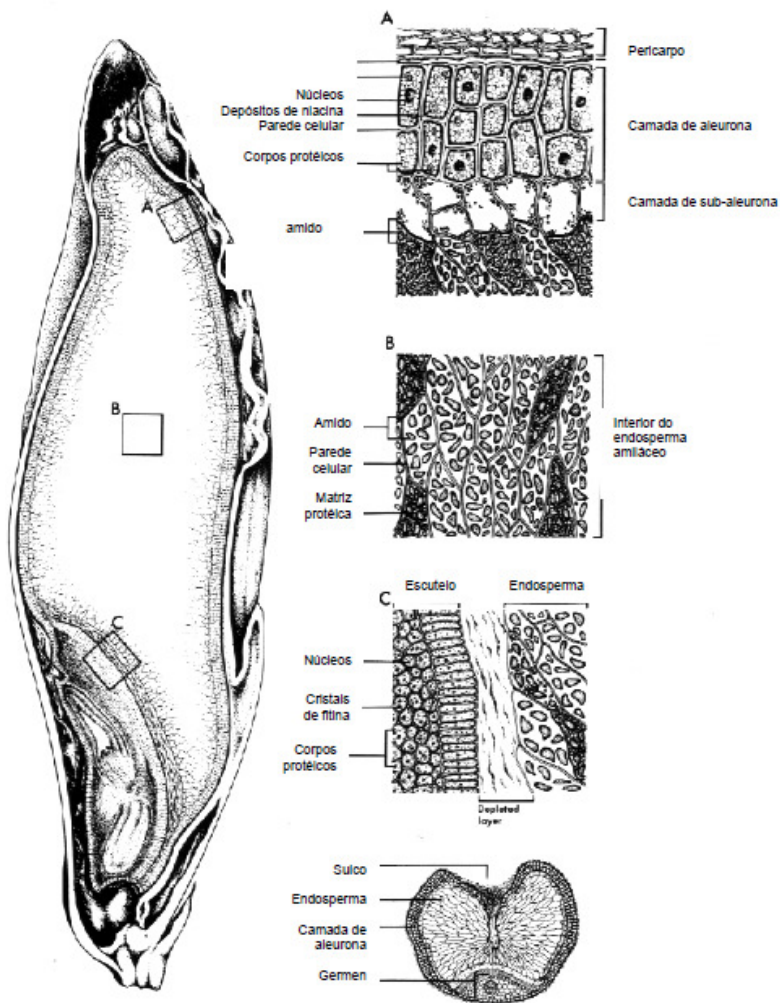


Figura 1 Estrutura do grão de cevada.
Fonte: Fulcher, Irving e de Francisco (1989).

1.1.3 Utilização da cevada

Atualmente, cerca de dois terços da produção de cevada é utilizado para alimentação animal, um terço para malte e cerca de 2% para a alimentação humana. Portanto, a cevada pode ser considerada relativamente subutilizada em relação ao seu potencial como ingrediente em alimentos. Contudo, em toda a sua história, ela manteve-se como importante fonte alimentar para algumas culturas, principalmente na Ásia e norte da África (NEWMAN; NEWMAN, 2006).

As β -glucanas, principais componentes da parede celular de grãos de cereais como cevada e aveia (BUCKERIDGE et al., 2004) tem motivado o crescente interesse neste cereal tanto para o consumo humano quanto para o uso na indústria de alimentos (OSCARSSON et al., 1996; MALKKI, 2004).

O aumento no consumo da cevada está associado à redução de risco das doenças cardiovasculares, diabetes tipo II, alguns tipos de cânceres, manutenção do peso corporal e benefícios relacionados à digestibilidade. Industrialmente, a utilização da cevada agrega aos produtos aspectos como textura, aparência, composição nutricional, sabor e aroma (ARNDT, 2006).

1.1.4 Composição química da cevada

De forma geral, o grão de cevada é composto por carboidratos solúveis (78,1%), proteínas (11,8%), fibras (5,3%), cinzas (3,1%) e lipídeos (1,8%) (KENT, 1987). Portanto, os principais componentes da cevada são proteína, amido e fibra alimentar e os componentes minoritários são lipídeos, minerais e vitaminas (YALÇIN et al., 2007).

Variações químicas podem ocorrer devido a fatores genéticos e ambientais (YALÇIN et al., 2007), acarretando diferentes características de comportamento e aplicações tecnológicas.

1.1.4.1 Proteínas

Segundo Oscarsson et al. (1996) e Yaçin et al. (2007), os teores de proteína na cevada oscilam entre 10 e 16%. A maior concentração de proteínas da cevada, cerca de 10-12%, encontra-se no endosperma na forma de uma matriz proteica (MACGREGOR; FINCHER, 1993).

As proteínas da cevada podem ser classificadas de acordo com a solubilidade em: albuminas (hidrossolúveis) e globulinas (solúveis em soluções salinas diluídas) que são proteínas fisiologicamente ativas (enzimas) e estão localizadas na camada de aleurona e no gérmen. As proteínas de reserva são constituídas pelas glutelinas (solúveis em ácidos e bases diluídas) e as prolaminas (hordeínas) (solúveis em álcool 70%). Este último grupo encontra-se formando a matriz proteica do endosperma da cevada (SHEWRY, 1993; HOWARD et al., 1996).

As prolaminas procedentes da cevada, do trigo e do centeio são responsáveis pela intolerância produzida em indivíduos com doença celíaca (LIBARDONI, 2001). As hordeínas compreendem uma mistura de peptídeos que podem ser divididos em quatro frações: B, C, γ e D (SHEWRY, 1993). A fração D (elevado peso molecular), por formar géis, exerce maior influência sobre a qualidade do malte apesar de corresponder a menos de 5% do total da fração proteica do grão (HOWARD et al. 1996; ECHART-ALMEIDA; CAVALLI-MOLINA, 2000).

Como todos os cereais, a cevada apresenta baixos níveis de lisina, e também de treonina e metionina (HOSENEY, 1991). Porém, contém altos níveis de glutamina e prolina (SHEWRY, 1993).

1.1.4.2 Carboidratos

Os carboidratos podem ser classificados em duas grandes categorias: os disponíveis e os não disponíveis. Os carboidratos disponíveis são digeridos e absorvidos pelos humanos (ENGLYST; HUDSON, 1996), o que inclui o amido (não resistente) e os açúcares solúveis. Os carboidratos não disponíveis compreendem polissacarídeos não-amiláceos (PNA) e amido resistente que não são digeridos por enzimas digestivas de seres humanos (SOUTHGATE, 1991 apud DEWETTINCK et al., 2008).

Os teores de carboidratos totais de cultivares de cevada brasileiros variam de 62,87% a 66,16% (CORREA, 2003). O amido, maior fonte de glicose da dieta humana (MAHAM; SCOTT-STUMP, 2002), é o principal componente presente nos carboidratos dos grãos de cevada, representando em torno de 60% dos carboidratos ou glicídios totais. A fração total é composta também por, em média, 6,5% de pentoses, 2 a 2,5% de celulose e 1,5% de açúcares redutores (HOSENEY, 1991).

1.2 FIBRAS ALIMENTARES

A *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005) define fibra alimentar como a parte comestível das plantas ou análogos aos carboidratos que são resistentes à digestão e absorção pelo intestino delgado humano, com fermentação parcial ou total no intestino grosso. As fibras podem ser classificadas de acordo com a estrutura como polissacarídeos e, em relação à solubilidade em água e ao grau de fermentação (pela ação das bactérias anaeróbicas no intestino grosso), em solúveis e insolúveis.

O grão de cevada é uma excelente fonte de fibra solúvel e insolúvel, as quais provêm benefícios à saúde (IZYDORCZYK et al., 2008). A fração solúvel é composta por substâncias pécticas, β -glucanas, hemiceluloses e gomas, a fração insolúvel é constituída por celulose, algumas hemiceluloses e lignina (GUERRA et al., 2004).

Os carboidratos não digeríveis são compostos dos polissacarídeos celulose, β -glucanas, hemicelulose, gomas, mucilagem, pectina, inulina, amido resistente, oligossacarídeos (fruto-oligossacarídeos, oligofrutose, polidextrose, galacto-oligossacarídeos e rafinose) (BORDERIAS et al., 2005).

As fibras alimentares insolúveis são compostas por celulose e lignina. A celulose é um homopolímero linear, insolúvel, de alta massa molecular, constituído de unidades repetidas de β -D-glicopiranosil, unidas por ligações glicosídicas (1 \rightarrow 4). Em função da natureza plana e linear, as moléculas de celulose podem associar-se umas às outras por meio de ligações de hidrogênio, ao longo de extensas zonas, formando maços fibrosos e policristalinos, o que lhe confere a insolubilidade em água (CALDWELL; NELSEN, 1999).

Segundo Fennema; Damodaran; Parkin (2010) a lignina é um componente não-carboidrato da parede celular dos vegetais, indigestível, possui estrutura tridimensional complexa e hidrofóbica, sempre associada a carboidratos da parede celular, é um polímero composto de unidades de fenil propano, como siringaldeído e vanilina, os quais estão ligados por meio de cadeias alifáticas laterais de três carbonos.

As fibras solúveis correspondem substâncias pécticas, glucanas, gomas, mucilagens, hemiceluloses e *psyllium* (WURSCH; PISUNYER, 1997).

A pectina costuma ser reconhecida como resíduos do ácido galacturônico unidos por ligações α -1,4 e esterificados em grau variável

com metanol. As pectinas comerciais são galacturonoglicanos com conteúdo variado de grupo éster metílico (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

As hemiceluloses são um grupo heterogêneo de polissacarídeos compostos por diversos tipos de hexoses e pentoses e, em alguns casos, resíduos de ácidos urônicos. Esses polímeros são classificados de acordo com os tipos de resíduos de açúcar predominantes, sendo chamados individualmente de xilanas, arabinogalactanas, glucomanas, entre outros (DEVRIES; PROSKY; CHO, 1999).

O processamento, como por exemplo tratamentos térmicos, podem alterar a relação entre fibras insolúvel e solúvel, teor de fibra alimentar total, e suas propriedades físico-químicas. Estas modificações dependem do tipo de material vegetal e da natureza do tratamento (ELLEUCH et al., 2011).

Estudos indicam inúmeros benefícios à saúde associados a um aumento da ingestão de fibra alimentar, incluindo redução do risco de doença coronariana, diabetes, obesidade e alguns tipos de câncer (BORDERIAS et al., 2005).

A fibra alimentar também pode conferir algumas propriedades funcionais aos alimentos, por exemplo, aumentar capacidade de retenção de água, capacidade de ligação com óleo, formação de emulsão e/ou gel. Quando é incorporada em produtos alimentícios, pode modificar as propriedades de textura, evitar sinerese, estabilizar alimentos ricos em gordura e emulsões e aumentar a vida de prateleira (ELLEUCH et al., 2011).

Na cevada, diferente de muitos grãos, a fração fibra não está presente apenas na casca, mas distribuída em todo o grão (YALÇIN et al., 2007). Assim, quando a camada externa é removida, apenas parte da fibra é perdida (OSCARSSON et al., 1996; XUE et al., 1997).

1.2.1 Efeitos fisiológicos das fibras alimentares

Desde meados da década de 1970, o papel da fibra alimentar na saúde e nutrição tem estimulado uma gama de pesquisa e chamado a atenção do consumidor (ABDUL-HAMID; LUAN, 2000). No entanto, no Brasil, o consumo de fibras alimentares tem diminuído nas últimas décadas como consequência da mudança do perfil sócio econômico da população, alterando também o estilo de vida e hábitos alimentares dos indivíduos. A ingestão de alimentos contendo fibras alimentares

diminuiu, sendo substituídos pelos ricos em gordura e/ou industrializados (CATALANI et al., 2003).

As frações que constituem a fibra alimentar exercem efeitos fisiológicos e metabólicos distintos no organismo humano. É reconhecido que os efeitos fisiológicos e físico-químicos de fibras alimentares dependem da quantidade relativa de componentes de fibra, especialmente no que diz respeito às frações solúveis e insolúveis (ELLEUCH et al., 2011).

As fibras insolúveis contribuem para o aumento do volume fecal devido à retenção de água, reduzindo o tempo de trânsito intestinal, a absorção de glicose e retardando a hidrólise do amido. As fibras insolúveis são encontradas no farelo de trigo, cereais integrais, raízes e hortaliças (CATALANI et al., 2003).

As fibras solúveis são substratos para a fermentação bacteriana, resultando em gases (hidrogênio, metano e dióxido de carbono) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Estes provem da degradação bacteriana de carboidratos e proteínas da dieta e os mais abundantes são o acetato, o propionato e o butirato. Os AGCC exercem papel importante na fisiologia do intestino, como principal fonte de energia, melhorando o fluxo sanguíneo, aumentando a absorção de água e de sódio, diminuindo o pH, sendo estes aspectos fundamentais, pelas propriedades, ao trofismo intestinal e a atuação no metabolismo da glicose e do colesterol (MOORE; PARK; TSUDA, 1998; BEHALL; SCHOLFIELD; HALLFRISCH, 2004; LI et al., 2004).

1.3 β -GLUCANAS

As β -glucanas são os maiores constituintes das fibras solúveis da cevada, e tem demonstrado efeito hipocolesterolêmico (ANDERSSON et al., 1999), redução do índice glicêmico e da incidência de câncer do cólon (IZYDORCZYK et al., 2008).

É um polissacarídeo composto de unidades de β -1,3 e β -1,4 glucopirranose (Figura 2), com cerca de 30% de ligações β -1,3 e 70% de ligações β -1,4. As paredes celulares do endosperma amiláceo consistem em cerca de 70% de β -glucanas e, enquanto as paredes de aleurona contém 26% de β -glucanas (WOODWARD; PHILIPS; FINCHER, 1988).

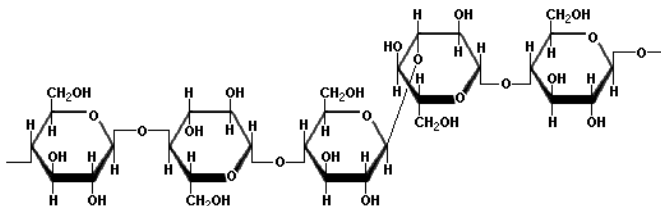


Figura 2 Estrutura química das β -1,3 e β -1,4 -D-glucanas.

Fonte: Zamora (2011).

Na cadeia linear de β -glucanas as ligações β -1,3 ocorrem isoladamente, enquanto as ligações β -1,4 são encontrados principalmente em sequências de 2 ou 3, mas sequências de 1 a 4 também foram relatadas. Portanto, as moléculas podem ser consideradas como sendo compostas por unidades celotriosil e celotetraosil unidas por ligações β -1,3 (CUI et al., 2000; SKENDI et al., 2003).

Fatores genéticos e ambientais, processamento e interação com outros constituintes podem influenciar as características estruturais, a concentração final, a solubilidade e a dispersibilidade das β -glucanas do grão, o que repercute nas propriedades físicas e nas subsequentes respostas fisiológicas (LAZARIDOU; BILIADERIS; IZYDORCZYK, 2003).

Estudos indicaram que cultivares de cevada cerosa, com até 100% de amilopectina, têm níveis mais elevados de β -glucanas em seu endosperma do que as variedades não cerosas (ULLRICH et al., 1986; YOON; BERGLUND; FASTNAUGHT, 1995). Um dos principais fatores ambientais que influenciam os níveis de β -glucanas parece ser a disponibilidade de água durante a maturação dos grãos. Foram relatados que condições de umidade podem causar uma diminuição nos níveis deste componente (AMAN; GRAHAM; TILLY, 1989), de modo que altos níveis de irrigação podem reduzir seu conteúdo no grão (GÜLER, 2003).

Níveis de β -glucanas podem variar drasticamente entre as variedades, mas normalmente estão na faixa de 2-6% do peso seco (ZHANG; CHEN; WANG, 2002). Apesar da sua contribuição relativamente pequena para o peso total do grão, está comprovado que as β -glucanas têm impacto sobre a tecnologia de utilização de cevada e sobre o valor nutricional do grão (BRENNAN; CLEARLY, 2005).

As β -glucanas são fibras alimentares solúveis em água com capacidade de formar solução aquosa altamente viscosa em

concentrações baixas como 0,5% (p/v) (FARAJ; VASANTHAN; HOOVER, 2006). Porém, a viscosidade dos alimentos ricos em β -glucanas depende da solubilidade, da concentração e da massa molecular (ANTILLA; SONTAG-STROHM; SALOVAARA, 2004).

As propriedades reológicas das β -glucanas dependem de uma série de fatores, incluindo a capacidade das cadeias de se associar, determinada pela proporção de unidades de celotriosil/celotetraosil e seu arranjo (CUI et al., 2000). Fatores que afetam suas características reológicas têm ligações com seu comportamento de viscosidade e seus efeitos potenciais sobre a estrutura dos alimentos, textura e propriedades nutricionais (BRENNAN; CLEARY, 2005).

1.3.1 Utilização das β -glucanas

As β -glucanas têm sido amplamente estudadas devido às propriedades físicas, funcionais e consequente importância comercial e nutricional, sendo aceitas como ingredientes bioativos e funcionais (WOOD, 2002).

Em âmbito nutricional, elas aumentam a viscosidade do bolo alimentar (BURKUS; TEMELLI, 2005) tornando a digestão mais lenta, prejudicando a interação das enzimas pancreáticas com o substrato e diminuindo a taxa de digestão dos carboidratos pela amilase pancreática, o que limita o aumento da glicemia pós-prandial (WURSCH; PISUNYER, 1997). Esta limitação deve-se também à fermentação bacteriana parcial que ocorre no intestino grosso e produz metabólitos que afetam a ação da insulina (WOOD et al., 1994). Atuam, então, com propriedades de fibras alimentares, já que não são degradadas pelas enzimas humanas (MATIAZI, 2006).

As β -glucanas vêm despertando grande interesse na área médica por suas ações como agente antioxidante, pela capacidade de aumentar a resistência do sistema imunológico no tratamento de certos tumores malignos e em infecções causadas por algumas bactérias e vírus. Por outro lado, a indústria de cosméticos tem utilizado β -glucanas na formulação de pomadas, aproveitando a capacidade anti-inflamatória e de diminuição de irritações na pele (REED; NAGODAWITHANA, 1991).

Origem (cultivar), tratamentos utilizados durante o processamento (efeitos da moagem, etc), e interações com outros componentes (polímeros ou solutos de pequena massa molecular), na

fonte primária ou em um composto da matriz alimentar, podem influenciar a concentração, as características estruturais e a dispersibilidade/solubilidade das β -glucanas e, assim, modular a sua ação fisiológica no trato gastro-intestinal (SKENDI et al., 2003).

Além da sua importância nutricional e farmacêutica, as β -glucanas apresentam importante papel tecnológico em alimentos processados, podendo ser utilizadas como espessantes e estabilizantes não calóricos; auxiliares na fabricação de queijos e sorvetes; substitutas de gordura em produtos lácteos e de confeitaria (WURCSH; PISUNYER, 1997), formadoras de géis e para desenvolvimento de produtos com alto teor de fibras alimentares (REED; NAGODAWITHANA, 1991).

A incorporação de β -glucanas em laticínios com teor de gordura reduzido pode produzir sensação bucal, espalhabilidade e propriedades sensoriais semelhantes aos produtos com teores de gordura normais. Brennan; Tudorica; Kuri (2002) demonstraram a possibilidade de utilização de β -glucanas na fabricação de sorvete e de iogurte com baixo teor de gordura.

Como espessante em alimentos, as β -glucanas comportam-se como um produto não calórico, podendo ser utilizadas como ingrediente em salsichas, linguças e molhos, aplicações em produtos análogos a queijos e também em sobremesas e em sorvetes (SIDOTI; LANDGRAPH; KHALIFA, 1973).

Como estabilizante, as β -glucanas atuam na substituição de ácidos graxos insaturados, utilizados, por exemplo, em iogurtes com bactérias lácticas (*Bifidobacterium*) (BEKERS; MARAUSKA; LAUKEVICS, 2001).

As β -glucanas são capazes de formar gel, podendo ser utilizadas como filme comestível (MORGAN; PHILLIPS, 2000).

Desta forma, extrair as β -glucanas da cevada e adicionar a alimentos processados é uma alternativa à indústria de alimentos pelo fato da cevada ser um ingrediente benéfico à saúde; inovador, com ampla aplicabilidade tecnológica ainda sendo descoberto, e consumido há longa data pela humanidade (ASHMAN; BECKLEY, 2006).

1.3.2 Extração de β -glucanas

A recuperação das β -glucanas das paredes celulares da cevada e da aveia não é simples, porque estas ocorrem no endosperma juntamente

com outros polissacarídeos não-amiláceos, que contém a matriz de proteína e amido, podendo ser extraídos junto com as β -glucanas (BRENNAN; CLEARLY, 2005).

Muitas pesquisas foram realizadas focando os efeitos do isolamento e as técnicas de purificação na estrutura, propriedades físico-químicas e fisiológicas de β -glucanas de cevada (WOODWARD; PHILIPS; FINCHER, 1988; BHATTY, 1993, 1995; BURKUS; TEMELLI, 1997; TEMELLI, 1998). Entre elas, moagem e peneiramento a seco (KNUCKLES; CHIU; BETSCHART, 1992; SUNDBERG; AMAN, 1994; WU; STRINGFELLOW; INGLET, 1994), e extração com solvente (WOOD et al., 1989; BHATTY, 1993; LI; CUI; KAKUDA, 2006). Processos envolvendo α -amilase também têm sido utilizados para a preparação de concentrados de β -glucanas a partir de cevada e aveia, através da hidrólise do amido (SAULNIER; GÉVAUDAN; THIBAUT, 1994; GHOTRA et al., 2007).

Na extração de β -glucanas com solventes, a conformação estrutural, a massa molecular e, portanto, a solubilidade do precipitado podem ser afetados pelos diferentes tipos de precipitantes (BEER; ARRIGONI; AMADO, 1996; MORGAN; OFMAN, 1998).

Um dos principais fatores limitantes para a utilização das técnicas de extração de β -glucanas pela indústria de alimentos é o custo. Assim, as preparações concentradas de β -glucanas têm sido muitas vezes ignoradas como potenciais ingredientes para alimentos funcionais, principalmente devido ao uso relativamente barato de cevada ou frações de farinha de aveia (BRENNAN; CLEARLY, 2005). Além disso, cuidados devem ser tomados para otimizar as características reológicas e de rendimento para evitar despolimerização durante a extração de β -glucanas.

1.4 AMIDO

O amido é o mais abundante carboidrato de reserva em plantas, constituindo-se também em importante fonte energética para a alimentação humana. Produzido nos amiloplastos, é constituído basicamente por dois polissacarídeos, a amilose e a amilopectina (VANDEPUTTE et al., 2003; SANDHU; SINGH; KAUR, 2004).

A amilose é um polímero linear de glicose unido através de ligações α -D-1,4 (Figura 3), com massa molecular de aproximadamente

10^5 - 10^6 Daltons, correspondendo a um grau de polimerização de 1000 a 10.000 unidades de glicose.

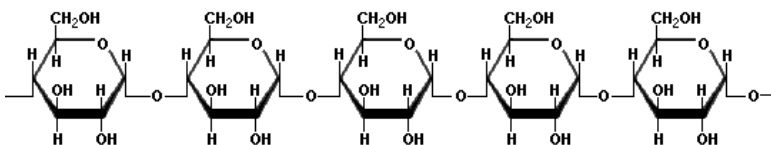


Figura 3 Estrutura química da amilose.

Fonte: Zamora (2011).

Apesar do baixo grau de ramificações, tem a tendência em formar agregados semi-cristalinos insolúveis (COPELAND et al., 2009). Isso a caracteriza como responsável pela absorção de água e pela formação de géis que originam redes tridimensionais (CHEFTEL; CHEFTEL, 1992), o que gera interesse à indústria de processamento de alimentos, por ter grande potencial na modificação da textura e melhorar a qualidade dos produtos elaborados (HUNG; MAEDA; MORITA, 2006). A forma helicoidal da amilose, na presença de iodo, forma complexo de inclusão com coloração azul, uma maneira de detectar a presença de amido (GIBSON; SOLAH; McCLEARY, 1997).

A amilopectina é um polímero de glicose ramificado, unido através de ligações α -D-1,4 e, nos pontos de ramificação, ligações α -D-1,6 (Figura 4) (CHEFTEL; CHEFTEL, 1992), com as cadeias organizadas em dupla hélice (MANNERS, 1989). Está presente na maioria dos amidos na concentração de 60 a 90%. Tem massa molecular de aproximadamente 10^8 Daltons e grau de polimerização que excede 1 milhão (COPELAND et al., 2009).

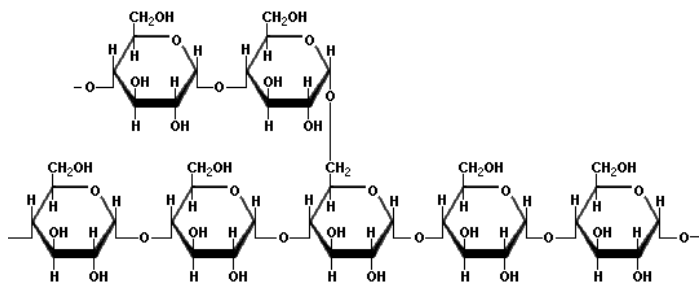


Figura 4 Estrutura química da amilopectina.

Fonte: Zamora (2011).

A estrutura do grânulo de amido apresenta zonas amorfas, semicristalinas e cristalinas (VANDEPUTTE et al., 2003). A natureza semicristalina do amido é atribuída às duplas hélices formadas por cadeias de amilopectina (VANDEPUTTE et al., 2003).

As propriedades do amido isolado de diferentes fontes (tamanho dos grânulos, viscosidade, grau de ramificação, propriedades de gelatinização) variam muito, o que pode afetar o seu uso em alimentos processados, bem como, sua digestibilidade (SIVAK; PREISS, 1998).

Além da sua importância nutricional como um constituinte natural, o amido também contribui para as propriedades características de produtos alimentícios oriundos de cereais e tubérculos (HERMANSSON; SVEGMARK, 1996).

1.4.1 Utilização do amido

O amido, além das β -glucanas, é um constituinte importante do grão de cevada, representando de 51 a 64% da composição (LI et al., 2001). Apesar disso, os estudos atuais envolvendo extração de β -glucanas de cevada desprezam o amido. No entanto, é possível sugerir que este resíduo tem potencial industrial para ser utilizado.

O amido isolado é usado em muitas áreas, e sua produção tem aumentado notavelmente na Europa nos últimos anos. As matérias primas para a produção de amido são milho, batata e trigo. E, as propriedades do amido dependem da fonte e também de modificações físicas e químicas (ANDERSSON; ANDERSSON; AMAN, 2001).

O mercado de amidos vem crescendo e se aperfeiçoando nos últimos anos, já que são inúmeras as possibilidades de utilização na tecnologia de alimentos, podendo atuar como agente de enchimento em embutidos cárneos, espessante na formação de géis, coadjuvante na estabilização de suspensões e de emulsões, e agente na elaboração de filmes para encapsulação de aromas (BARRETO; BEIRÃO, 1999; SANDHU; SINGH; KAUR, 2004).

Na maioria das aplicações, as propriedades funcionais do amido são obtidas por gelatinização e quebra da estrutura cristalina (ROBERTS; CAMERON, 2002). A formação de gel ou pasta é um dos principais fatores que controla a textura e a qualidade dos alimentos contendo amido (LII; SHAO; TSENG, 1995). Os grânulos de amido intumescem quando aquecidos em excesso de água (SANDHU; SINGH;

KAUR, 2004), o que promove a gelatinização, processo pelo qual a estrutura interna do grânulo é hidrolisada e a totalidade do grânulo desintegrada liberando os polissacarídeos dentro do meio circundante.

A força do gel tem sido reportada como dependente da capacidade de ligação à água das moléculas de amido por ligações de hidrogênio (LEE; OSMAN, 1991). As estruturas de dupla hélice são desestabilizadas durante a gelatinização e substituídas por água, sendo o intumescimento controlado pela cristalinidade da molécula (TESTER; KARKALAS, 1996).

A produção de amido de cevada, no entanto, é pequena no mundo todo, devido à competição da produção mais vantajosa de outros amidos. Porém, o fracionamento da cevada visando à concentração de seus componentes principais, como amido, β -glucanas e proteína, tem sido investigado (ZHENG; BHATTY, 1998; LI et al., 2001; GAO; VASANTHAN; HOOVER, 2009).

O amido extraído pode ter as propriedades reológicas melhoradas ou adaptadas às necessidades tecnológicas específicas, o que constitui uma alternativa de aumento da utilidade deste polímero nas aplicações industriais (SITOHY et al., 2000). Tais propriedades podem ser alteradas através de modificações físicas (amido pré-gelatinizado), químicas (amidos oxidados, amidos com ligações intermoleculares, amidos substituídos e outros), enzimáticas (hidrólise) ou genéticas (amido de milho ceroso com elevado teor de amilopectina, amido com alto teor de amilose) (BILIADERIS, 1982; SCHIRMER; TOLEDO; REYS, 1986; BRANEN; DAVIDSON; SALMINEN, 1990; KIM; HERMANSON; ERIKSSON, 1992; ELIASSON; GUDMUNDSSON, 1996; BeMILLER, 1997; SIVAK; PREISS, 1998; ALVES; GROSSMANN; SILVA, 1999; STAHL et al., 2007; LIMBERGER et al., 2008).

Os amidos podem ser hidrolisados por via química, através da utilização de ácido, calor e pressão ou por via enzimática. Porém, a hidrólise ácida vem sendo substituída pela enzimática, que é mais branda, reduzindo reações secundárias que levam a subprodutos indesejáveis e ao escurecimento (SRICHUWONG et al., 2005), além da especificidade enzimática permitir a produção de hidrolisados com propriedades físicas e químicas bem definidas (NIGAM; SINGH, 1995). Dentre os produtos obtidos pela hidrólise enzimática do amido estão os xaropes açucarados, matéria-prima usada na área de tecnologia de alimentos (MOORE et al., 2005).

1.5 ENZIMAS E PRODUTOS DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO

As enzimas são macromoléculas classificadas como proteínas globulares, que atuam como catalisadores biológicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006). As enzimas que atuam sobre o amido são usadas principalmente para aplicações em produtos, tais como produção de xaropes de milho, dextrinas, xaropes de milho ricos em frutanos, xaropes de maltose e glicose (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010), pois os produtos da conversão enzimática do amido vão de glicose à dextrinas de peso molecular elevado.

As enzimas podem ser utilizadas isoladamente, em sequência ou em combinação com o amido para produzir uma variedade de componentes sacarídicos e uma ampla gama de composições de xarope, resultando em grande variedade de xaropes de diferentes propriedades (NIGAM; SINGH, 1995).

1.5.1 α -amilase

As amilases são usadas para hidrolisar amido em dextrinas e, assim, solubilizar, suspensões de amido. A α -amilase (EC 3.2.2.2, 1,4- α -D-glicano glicano-hidrolase) é uma endoenzima, de ação retentora $\alpha \rightarrow \alpha$ responsável, em especial, por reduzir rapidamente a massa molecular média de polímeros de amido (KANDRA, 2003).

Existem diversas fontes de α -amilases, a maioria microbiana, embora amilases de malte (cevada ou trigo) estejam disponíveis. Os produtos finais típicos da ação das α -amilases são α -dextrinas-limite ramificadas e malto-oligossacarídeos de 2 a 12 unidades de glicose, predominando os maiores. A viscosidade do amido é reduzida com rapidez devido à natureza randômica da hidrólise, diminuindo em pouco tempo a massa molecular média das cadeias de amilose/amilopectina. Fontes comerciais comuns para transformação de amido incluem as α -amilases de espécies de *Bacillus* e *Aspergillus*. As de *Bacillus* são termoestáveis e podem ser usadas entre 80-100°C em pH entre 5-7 e 5-60 ppm Ca^{2+} . As enzimas de fungos (*Aspergillus*) funcionam em condições ótimas entre 50-70°C, pH 4-5 e ~50 ppm Ca^{2+} (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

1.5.2 β -amilase

A β -amilase (EC 3.2.1.2, 1,4- α -D-glucano malto-hidrolase) é uma exoglicosidase, $\alpha \rightarrow \beta$ inversora, que libera unidades de maltose a partir das extremidades não redutoras de cadeias de amilose. A ação extensiva da β -amilase sobre o amido gera uma mistura de maltose e β -dextrinas limite, sendo que as últimas retêm os pontos de ramificação α -1,6, permanecendo porções lineares que são inacessíveis (por impedimento espacial) à enzima. As β -dextrinas-limite têm massa molecular média superior as α -dextrinas-limite, pois a ação exo da β -amilase não pode ultrapassar os pontos de ramificação α -1,6, enquanto a α -amilase, sendo uma endoenzima, pode fazê-lo. As β -amilases de soja, batata-doce, e *Bacillus* spp. estão entre as mais bem caracterizadas. Enquanto as enzimas de plantas não podem ligar e digerir amido cru, algumas enzimas microbianas têm domínios separados na proteína que lhe conferem essa habilidade. As β -amilases geralmente têm pH ótimo menos ácido (pH 5-7) em comparação as α -amilases, não requerem Ca^{2+} , e exibem temperatura ótima no intervalo de 45-70°C, dependendo da fonte (fontes microbianas são mais termooestáveis) (WHITAKER; VORAGEN; WONG, 2003; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

1.5.3 Pululanase

As pululanases do tipo I (EC 3.2.1.41, pululana 6-glicano-hidrolase) são chamadas de enzimas “desramificadoras” ou “dextrinases-limite”, pois hidrolisam dextrinas que contêm as ligações glicosídicas α -1,6 que constituem os pontos de ramificação da amilopectina. A pululanase está presente em muitas bactérias, algumas leveduras e cereais. A pululanase pode agir sobre fragmentos maiores, mas não em menores do que a pululana, uma unidade repetitiva de [α -D-Glc-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glc-(1 \rightarrow 6)- α -D-Glc-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glc], age lentamente sobre a amilopectina, e prefere dextrinas-limite que são produzidas durante os estágios avançados da liquefação e da sacarificação do amido. Seus produtos são glico-oligossacarídeos lineares pequenos como a maltose. As pululanases são obtidas geralmente de *Klebsiella* e *Bacillus* spp., limites superiores de temperatura de 55-65°C e pH ótimo de 3,5 a 6,5 com nenhum requerimento de co-fator (embora algumas sejam ativadas pelo Ca^{2+}). As pululanases de origem vegetal também são

chamadas de dextrinas-limite, sendo os grãos germinados ou maltados suas fontes mais ricas, em especial a cevada. As pululanases do tipo II (ou amilopululanases, EC 3.2.1.41) são principalmente de origem microbiana, têm atividade combinada α -amilase-pululanase e podem hidrolisar tanto ligações α -1,4 quanto α -1,6 no amido (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

1.6 XAROPE DE MALTOSE

A maltose é um dissacarídeo redutor formado por duas moléculas de glicose unidas por ligações α -1,4 (Figura 5).

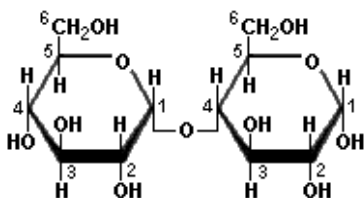


Figura 5 Estrutura química da maltose.

Fonte: Zamora (2011).

Em virtude de suas características peculiares, o xarope de alto teor de maltose é utilizado em fermentações, panificação, bebidas e confeitaria (MALDONADO; LOPEZ, 1995). A higroscopicidade da maltose (grau de polimerização 2) é muito baixa quando comparada com o sacarídeos com maior grau polimérico em todas as umidades relativas (MARCHAL et al., 1999). Portanto, tem sido utilizada também para o controle da atividade de água em alimentos (SHAW; SHEU, 1992; GAOUAR et al., 1997).

Recentemente, o uso de malto-oligossacarídeos, como fibra alimentar e fonte de energia para bactérias lácticas probióticas, tem aberto um novo mercado para a maltose (CEREDA; VILPOUX, 2003).

A indústria cervejeira, por questão econômica, substituiu parcialmente o malte utilizado na produção de cerveja por cereais não maltados (adjuntos amiláceos) ou por xaropes de alto teor de maltose (adjuntos açucarados). As cervejarias brasileiras têm substituído, progressivamente, os adjuntos amiláceos, tais como “grits” de milho e quirera de arroz, por adjuntos açucarados na forma de xarope de maltose (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998).

Na indústria de maltose, os diferentes xaropes produzidos são classificados em três categorias, como apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Categorias de xaropes de maltose comerciais com diferentes DE (Dextrose Equivalente).

Categoria de xarope	DE	Glicose	Maltose
Xarope de alta conversão	62-63	35%	30-45%
Xarope de alta concentração de maltose	48-52	5%	48-52%
Xarope de altíssima concentração de maltose	50-60	5%	70-85%

Adaptado de Cereda, Vilpoux (2003).

Apesar do amplo mercado para a maltose, é restrito o número de publicações que descrevem a produção a partir de fontes de amido diferentes do milho, principalmente por hidrólise direta (sem purificação do amido) (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998).

1.6.1 Obtenção do xarope de maltose

No início do século XIX, Kirchhoff, um químico alemão, descobriu que a fervura do amido em solução ácida produzia uma substância doce (DZIEDZIC; KEARSLEY, 1984). O primeiro avanço tecnológico significativo ocorreu em 1946, quando Dale e Langois patentearam o uso de enzimas disponíveis no mercado para a produção comercial de xaropes de milho (NIGAM; SINGH, 1995), mas somente na década de 70 o consumo de xaropes em substituição à sacarose tornou-se importante comercialmente (MALDONADO; LOPEZ, 1995).

O xarope de maltose é tradicionalmente obtido a partir da hidrólise ácida e/ou enzimática de amido de milho. O uso de enzimas traz muitas vantagens quando comparado ao uso de ácido, já que a especificidade das enzimas proporciona a obtenção de xaropes com propriedades físicas e químicas bem definidas e, a reação mais branda da hidrólise enzimática resulta em menores reações secundárias e menos escurecimento do produto final (NIGAN; SINGH, 1995).

Hidrolisados enzimáticos de amido são produzidos industrialmente por reações de uma solução de amido dissolvido (até 40% [p/p]) . No entanto, a concentração na qual a reação de hidrólise

ocorre, influencia a composição de sacarídeos obtidos durante a hidrólise. Além da concentração, a temperatura é um fator que interfere na composição final de sacarídeos do produto obtido a partir da hidrólise (MARCHAL et al., 1999).

Para melhorar o rendimento em maltose, Sato e Park (1980) propuseram a utilização conjunta da α -amilase e da isoamilase, enzima desramificadora, para a produção em larga escala de xarope de maltose a partir do amido isolado de milho. O uso de enzimas desramificadoras também foi proposto por Slominska e Starogardzka (1986) utilizando simultaneamente amilase maltogênica (*B. stearrowthermophilus*), pululanase e α -amilase fúngica proporcionando maior rendimento do xarope de maltose, a partir de amido de batata, com 70-85% de maltose.

REFERÊNCIAS

ABDUL-HAMID, A.; LUAN, Y. S. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. **Food Chemistry**, v. 68, p. 15–19, 2000.

AIME, D. B.; ARNTFIELD, S. D.; MALCOLMSON, L. J.; RYLAND, D. Textural analysis of fat reduced vanilla ice cream products. **Food Research International**, v. 34, p. 237-246, 2001.

ALEXANDER, R. J. Fat replaces based on starch. **Cereal Foods World**, v. 40, p. 366-368, 1995.

ALVES, R. M. L. GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F. Gelling properties of extruded yam (*Dioscorea alata*) starch. **Food Chemistry**, v. 67, p. 123-127, 1999.

AMAN, P.; GRAHAM, H.; TILLY, A. C. Content and solubility of mixed (1→3) (1→4)- β -D-glucan in barley and oats during kernel development and storage. **Journal of Cereal Science**, v. 10, p. 45–50, 1989.

ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; GUSTAFSON, N. J. Health benefits and practical aspects of high-fiber diets. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.59, p. 1242-1247, 1994.

ANDERSSON, A. A. M.; ANDERSSON, R.; AMAN, P. Starch and by-products from a laboratory-scale barley starch isolation procedure. **Cereal Chemistry**, 78, 5, 507-513, 2001.

ANDERSSON, A. A. M.; ANDERSSON, R.; AUTIO, K.; AMAN, P. Chemical Composition and Microstructure of Two Naked Waxy Barleys. **Journal of Cereal Science**, v. 30, p. 183-191, 1999.

ANTILLA, H.; SONTAG-STROHM, T.; SALOVAARA, H. Viscosity of beta-glucan in oat products. **Journal of Science Food and Agriculture**, v.13, p.80-87, 2004.

AOAC. Official methods of Analysis of the Association of the Official Analysis Chemists (16th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 2005.

ARNDT, E. A. Whole-Grain Barley Today's Health and Wellness Needs. **Cereal Foods World**, v.51, n.1, p.20-22, 2006.

ARNGREN, M.; HANSEN, P. W.; ERIKSEN, B.; LARSEN, J.; LARSEN, R. Analysis of Pregerminated Barley Using Hyperspectral Image Analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 59, p. 11385–11394, 2011.

ASHMAN, H.; BECKLEY, J. Rediscovering Barley. **Cereal Foods World**, v.51, n.1, p.38-39, 2006.

BAIK, B. K.; ULLRICH S. E. Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 233–242, 2008.

BARRETO, P. L. M.; BEIRÃO, L. H. Influência do amido e carragena nas propriedades texturiais de surimi de tilápia (*Oreochromis* sp.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.19, p. 45-47, 1999.

BEER, M. U., ARRIGONI, E., AMADO, R. Extraction of oat gum from oat bran: effects of process on yield, molecular weight distribution, viscosity and (1→3) (1→4)-β-D-glucan content of gum. **Cereal Chemistry**, v. 73, p. 58–62, 1996.

BEHALL, K. M.; SCHOLFIELD, D. J.; HALLFRISCH, J. Diets containing barley significantly reduce lipids in mildly hypercholesterolemic men and women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 1185-1193, 2004.

BEKERS, M.; MARAUSKA, M.; LAUKEVICS, J. Oats and fat-free milk based functional food product. **Food-Biotechnology**, v.5, p.1-12, 2001.

BeMILLER, J. N. Starch Modification: Challenges and Prospects. **Starch/Stärke**, v. 49, n. 4. 1997.

BHATTY, R. S. Extraction and enrichment of (1→3) (1→4)- β -D-glucan from barley and oat brans. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 73–77, 1993.

BHATTY, R. S., Laboratory and pilot plant extraction and purification of β -glucans from hull-less barley and oat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 22, p. 163–170. 1995.

BILIADERIS, C. G. Physical characteristics, enzymatic digestibility and structure of chemically modified smooth pea and maxy maize starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, p. 925-931, 1982.

BORDERIAS, A. J.; SANCHEZ-ALONSO, I.; PEREZ-MATEOS, M. New application of fibre in foods: Addition to fishery products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, p. 458–465, 2005.

BOTHMER, R.V.; JACOBSEN, N. Origin, taxonomy and related species. In: Rasmusson, D.C. (Ed.), **Barley. American Society of Agronomy**, Madison, WI, p. 19–56, 1985.

BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M.; SALMINEN, S. Food Additives. **Series Food Science and technology**, New York. p. 405-406, 1990.

BRENNAN, C. S.; J. CLEARY, L. The potential use of cereal (1→3,1→4)-β-D-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 42, p. 1–13, 2005.

BRENNAN, C.S., TUDORICA, C.M., KURI, V. Soluble and insoluble dietary fibres (non-starch polysaccharides) and their effects on food structure and nutrition. **Food Industry Journal**, v. 5, p. 261–272, 2002.

BUCKERIDGE, M. S., RAYON, C., URBANOWICZ, B., TINE, M. A. S., CARPITA, N. C. Mixed linkage (1→3), (1→4)-β-D-glucans of grasses. **Cereal Chemistry**, v. 81, p. 115–127, 2004.

BURKUS, Z.; TEMELLI, F. Effect of extraction conditions on yield, composition, and viscosity stability of barley β-glucan gum. **Cereal Chemistry**, v. 75, 805–809, 1998.

BURKUS, Z.; TEMELLI, F. Rheological properties of barley β-glucan. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p.459-465, 2005.

CALDWELL, E. F; NELSEN, T. C. Development of an analytical reference standard for total, insoluble, and soluble dietary fiber. **Cereal Foods World**, v. 44, p. 360-362, 1999.

CATALANI, A.L.; KANG, E.M.S.; DIAS, M.C.G.; MACULEVICIUS, J. Fibras alimentares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.18, p.178-182, 2003.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Tecnología, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, Fundação Cargill, São Paulo, 2003, p. 711.

CHEFTEL, J.; CHEFTEL, H. **Introducción a la bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1992, v. I, p. 99-134.

COPELAND, L.; BLAZEJ, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527-1534, 2009.

CORREA, D. X. **Parâmetros físico-químicos, germinativos e microestruturais de qualidade em cultivares brasileiros de cevada cervejeira**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

CUI, W.; WOOD, P. J.; BLACKWELL, B.; NIKIFORUK, J. Physicochemical properties and structural characterization by two dimensional NMR spectroscopy of heat b-D-glucan-comparison with other cereal b-Dglucans. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 249–258, 2000.

DE SÁ, R.M.; FRANCISCO, A.; SOARES, F.C.T. Concentração de beta-glucanas nas diferentes etapas do processamento da aveia. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.18, p.425-427, 1998.

DEVRIES, J. W.; PROSKY, L.; LI, B.; CHO, S. A historical perspective on defining dietary fiber. **Cereal Foods World**, v. 44, p. 367-369, 1999.

DEWETTINCK, K.; VAN BOCKSTAELE, F.; KÜHNE, B.; VAN DE WALLE, D.; COURTENS, T. M. GELLYNCK, X. Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception - Review. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 2, p. 243-257, 2008.

DZIEDZIC, S.Z.; KEARSLEYM.W. **Glucose syrups: science and technology**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1984, 276p.

ECHART-ALMEIDA, C; CAVALLI-MOLINA, S. Hordein variation in Brazilian barley varieties (*Hordeum vulgare* L) and wild barley (*H. euclaston* Steud and *H. stenostachys* Godr.). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 2, p. 425-433. 2000.

ELIASSON, A. C.; GUDMUNDSSON, M. Starch: physicochemical and functional aspects. **Carbohydrates in Food**. (ed.) Marcel Dekker, Inc.: New York, 1996, p. 431-503.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124p. 411–421, 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, disponível em <http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/cevada/index.htm>, acessado em 10 de dezembro de 2011.

ENGLYST, H. N.; HUDSON, G. J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 15-21, 1996.

ERKAN, H.; ÇELİK, S.; BILGI, B.; KÖKSEL H. A new approach for the utilization of barley in food products: Barley tarhana. **Food Chemistry**, v. 97, p. 12–18, 2006.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. The influence of α -amylase-hydrolysed barley starch fractions on the viscosity of low and high purity barley β -glucan concentrates. **Food Chemistry**, v. 96, p. 56-65, 2006.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema** - 4ª Ed. - Porto Alegre: Artmed, 2010, 900 p.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 116-120, 2003.

FULCHER, R. G.; IRVING, D.W.; DE FRANCISCO, A. Fluorescence microscopy: applications in food analysis. In: MUNCK, L.; de FRANCISCO, A. **Fluorescence Analysis in Foods**. U.K: Longman Scientific and Technical. p.59-109. 1989.

GALDEANO, M. C.; GROSSMANN, M. V. E. Oat hulls treated with alkaline hydrogen peroxide associated with extrusion as fiber source in cookies. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.123-126, 2006.

GAO, J.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. Isolation and Characterization of High-Purity Starch Isolates from Regular, Waxy, and High-Amylose Hulles Barley Grains. **Cereal Chemistry**, v.86, p. 157-163, 2009.

GAOUAR, O.; AYMARD, C.; ZAKHIA, N.; RIOS, G.M. Enzymatic hydrolysis of cassava starch into maltose syrup in a continuous membrane reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 69, p. 367-375, 1997.

GAVA, A. J; SILVA, C. A. B; FRIAS, J. R. **Tecnologia de Alimentos**, Princípios e Aplicações. São Paulo, Ed. Nobel, 2008, 399 p.

GEISE, J. Developing low-meat products. **Food Technology**, v. 46, p. 100-108, 1992.

GEISE, J. Fat, oils and fat replaces. **Food Technology**, v. 50, p. 77-83, 1996.

GHOTRA, B. S.; VASANTHAN, T.; WETTASINGHE, M.; TEMELLI, F. P-31-nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of phosphorus in oat and barley beta-glucans. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1056-1061, 2007.

GIBSON, T. S.; SOLAH, V. A.; McCLEARY, B. V. A procedure to measure amylase in cereal starches and flours with concanavalin. **A Journal of Cereal Science**, v. 25, p. 111-119, 1997.

GUERRA, N. B.; DAVID, P. R. S.; DE MELO, D. D.; VASCONCELOS, A. B. B.; GUERRA, M. R. M. Modificações do método gravimétrico não enzimático para determinar fibra alimentar solúvel e insolúvel em frutos. **Revista Nutrição**, v. 17, p. 45-52, 2004.

GÜLER, M. Barley grain beta-glucan content as affected by nitrogen and irrigation. **Field Crops Research**, v. 84, p. 335–340, 2003.

HERMANSSON, A. M.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, nov., p. 345-353, 1996.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnologia de los cereales**. Zaragoza: Acribia, 1991.

HOUGH, J. S. **Biotechnología de la cerveza y de la malta**. Zaragoza: Acribia, 1990, p. 9-20.

HOUGH, J.S.; BRIGGS, D. E.; STEVENS, R. **Malting and Brewing Science**. U.S.A.: Halsted Press, 1975.

HOWARD, K.A. GAYLER, K.R.; EAGLES, H.A.; HALLORAN, G.M. The relationship between D Hordein and malting quality in barley. **Journal of Cereal Science**, v. 24, p. 47-53. 1996.

HUNG, P. V.; MAEDA, T.; MORITA, N. Waxy and high-amylose wheat starches and flours – characteristics, functionality and application. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 8, p. 448-456, 2006.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201110.pdf Acessado em 10 de dezembro de 2011.

IZYDORCZYK, M. S.; CHORNICK, T. L.; PAULLEY, F. G.; EDWARDS, N. M.; DEXTER, J. E. Physicochemical properties of hull-less barley fibre-rich fractions varying in particle size and their potential as functional ingredients in two-layer flat bread. **Food Chemistry**, v. 108, p. 561-570, 2008.

WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. **Handbook of Food Enzymology**. Marcel Dekker, New York, 2003, 1108p.

KHALIL, A. H. Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. **Food Chemistry**, v. 68, p. 61-68, 2000.

KANDRA, L. α -Amylases of medical and industrial importance. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 666–667, p. 487–498, 2003.

KENT, N. L. **Tecnología de los cereales – Introducción para Estudiantes de ciencia de los alimentos y agricultura**. Zaragoza: Acribia, 1987.

KIM, H. R.; HERMANSON, A. M.; ERIKSSON, C. E. Structural characteristics of hydroxypropyl potato starch granules depending on their molar substitution. **Starch/Stärke**, v.42, p.418-423, 1992.

KNUCKLES, B. E.; CHIU, M. M.; BETSCHART, A. A. β -Glucan-enriched fractions from laboratory-scale dry milling and sieving of barley and oats. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 198-202, 1992.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G.; IZYDORCZYK, M. S. Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 693–712, 2003.

LEE, Y. E.; OSMAN, E. M. Correlation of morphological changes of rice starch granules with rheological properties during heating in excess water. **Journal of Korean Agricultural Chemical Society**, v. 34, p. 379-385, 1991.

LI, J.; WANG, J.; KANEKO, T.; QIN, L.; SATO, A. Effects of fiber intake on the blood pressure, lipids, and heart rate in Goto Kakizaki rats. **Nutrition**, v. 20, p. 1003–1007, 2004.

LI, J.H.; VASANTHAN, T; ROSSNAGEL, B; HOOVER, R. Starch from hull-less barley: I. Granule morphology, composition and amylopectin structure. **Food Chemistry**, v. 74, p. 395–405, 2001.

LI, W., CUI, S. W.; KAKUDA, Y. Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 408–416, 2006.

LIBARDONI, E. **Determinação de glúten em aveia e produtos derivados**. 2001. Florianópolis, 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo (SP): SARVIER, 2006, 1202p.

LII, C. Y.; SHAO, Y. Y.; TSENG, K. H. Gelation mechanism and rheological properties of rice Starch. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 4, p. 393-400, 1995.

LIMBERGER, V. M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T.; COMARELA, C. G.; PATIAS, L. D. Modificação Química e Física do Amido de Quirera de Arroz para Aproveitamento na Indústria de Alimentos. **Química Nova**, v.31, n. 1, p. 84-88, 2008.

MACGREGOR, A. W.; FINCHER, G. B. Carbohydrates of the barley grain In: MacGREGOR, A. W.; BHATTY, R. S. **Barley: Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc., 1993, p. 73-130.

MACGREGOR, A. W.; MORGAN J. E. Structure of amylopectins isolated from large and small starch granules of normal and waxy barley. **Cereal Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 222-228, 1984.

MAHAM, L.K. e SCOTT-STUMP, S. M. A. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10 Ed. São Paulo: Roca, 2002, 1157p.

MALDONADO, G. H.; LOPEZ, P. O. Amylolytic Enzymes And Products Derived from Starch - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, p. 373-403, 1995.

MALKKI, Y. Trends in dietary fibre research and development. **Acta Alimentaria**, v. 33, p. 39–62, 2004.

MANNERS, D. J. Recent developments in our understanding of amylopectin structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 11, n. 2, p. 87-112, 1989.

MARCHAL, L. M.; BEEFTINK, H. H.; TRAMPER, J. Towards a rational design of commercial maltodextrins. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 345-355, 1999.

MATIAZI, H. **Otimização da extração de glucanas insolúveis na parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, sua ação hipocolesterolêmica e os efeitos na calstogenicidade e teratogenicidade causadas pela exposição aguda à ciclofosfamida em camundongos**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

MOORE, G. P.; DO CANTO, L. R. ; SOLDI, V. ; AMANTE, E. R. . Cassava and corn starch to maltodextrin production. **Química Nova**, v. 28, p. 596-600, 2005.

MOORE, M. A.; PARK, C. B.; TSUDA, H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 27, p. 229-242, 1998.

MORGAN, K. R., OFMAN, D. J. Glucagel, a gelling b-glucan from barley. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 879–881, 1998.

MORGAN, K.; PHILLIPS, G. O. Cereal beta-glucans. **Handbook of hydrocolloids**. New Zealand, 2000, p.287-307.

NEWMAN, C. W.; NEWMAN, R. K. A Brief History of Barley Foods. **Cereal Foods World**, v.51, p.4-8, 2006.

NIGAM, P; SINGH, D. Enzyme involved and microbial systems in starch processing. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 770-778, 1995.

OSCARSSON, M.; ANDERSSON, R.; SALOMONSSON, A. – C.; AMAN, P. Chemical Composition of Barley Samples Focusing on Dietary Fibre Components. **Journal of Cereal Science**, v. 24, p. 161-170, 1996.

OSCARSSON, M.; PARKKONEN, T.; AUTIO, K. Composition and microstructure of waxy, normal and high amylose barley samples. **Journal of Cereal Science**, v. 26, p. 259-264, 1997.

RAGAEI, S. M.; WOOD, P. J.; WANG, Q.; TOSH, S.; BRUMMER, Y. Extractability, Structure and Molecular Weight of β -glucan from Canadian Rye (*Secale cereale* L.) Whole Meal. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 283-288, 2008.

RAMUSSON, D. C. **Barley**. U.S.A.: American Society of Agronomy, 1985.

REED, G.; NAGODAWITHANA, W. T. **Yeast Technology**, 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991, 454p.

ROBERTS, S. A.; CAMERON, R. E. The effects of concentration and sodium hydroxide on the rheological properties of potato starch gelatinisation. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 133-143, 2002.

SANDHU, K. S.; SINGH, H.; KAUR, M. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 119-127, 2004.

SATO, H. H.; PARK Y. K. Production of maltose from starch by simultaneous action of beta-amylase and flavobacterium isoamylase. **Starch/Stärke**, v. 32, p. 352-355, 1980.

SAULNIER, L.; GÉVAUDAN, S.; THIBAUT, J. F. Extraction and partial characterization of β -glucan from the endosperms of two barley cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 171-178, 1994.

SCHIRMER, M. A.; TOLEDO, M. C. F.; REYS, F. G. R. Amido fosfatado de milho. Parte I. Efeito da temperatura e tempo de tratamento térmico. **Boletim SBCTA**, v. 20, p. 55-66, 1986.

SHAW, J.F.; SHEU, J.R. production of high-maltose syrup and high-protein flour from rice by an enzymatic method. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**. v. 56, p. 1071-1073, 1992.

SHEWRY, P.R. Barley seed proteins. In: MACGREGOR, A.W.; BHATTY, R.S. **Barley: Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1993. p. 131-183.

SIDOTI, D. R.; LANDGRAPH, G. M.; KHALIFA, R. A. Functional properties of baker's yeast glycan. Presented at the 33rd Annual Meeting of the Institute of Food Technologist, Miami, Florida, 1973, Jan 6-14.

SITOHY, M. Z.; ELSAADANY, S. S.; LABIB, S. M.; RAMADAN, M. F. Physicochemical properties of different types of starch phosphate monoesters. **Starch/Stärke**, v.52, n.4, p.101-105, 2000.

SIVAK, M.N.; PREISS, J. Industrial Applications of starch. em: **Starch: basic science to biotechnology**. Advances in Food Nutrition Research. 41, 163-170, 1998.

SKENDI, A.; BILIADERIS, C. G.; LAZARIDOU, A.; IZYDORCZYK, M. S. Structure and rheological properties of water soluble β -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p.15–31, 2003.

SLOMINSKA, L.; STAROGARDZKA G. Studies on the application of maltogenic amylase in the production of maltose containing syrup. **Starch/Stärke**, v.38, p. 205-210, 1986.

SRICHUWONG, S.; ISONO, N.; MISHIMA T.; HISAMATSU, M. Structure of lintnerized starch is related to X-ray diffraction pattern and susceptibility to acid and enzyme hydrolysis of starch granules.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 37, p. 115–121, 2005.

STAHL, J.A.; LOBATO, L.P.; BOCHI, V.C.; KUBOTA, E.H.; GUTKOSKI, L.C.; EMANUELLI, T. Physicochemical properties of Pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 40, 1206-1214, 2007.

SUNDBERG, B. ; ÅMAN, P. Fractionation of different types of barley by roller milling and sieving. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 179-184, 1994.

TEPELLI, F. Extraction and Functional Properties of Barley β -glucan as Affected by Temperature and pH. **Journal of food science**, v. 62, p. 1194-1201, 1997.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. Swelling and gelatinization of oat starches. **Cereal Chemistry**, v. 73, p. 271-273, 1996.

ULLRICH, S. E.; CLANCY, J. A.; ESLICK, R. F.; LANCE, R. C. M. β -Glucan content and viscosity of extracts from waxy barley. **Journal of Cereal Science**, v. 4, p. 11–18, 1986.

USDA. United States Department of Agriculture. Germplasm Resources Information Network Taxonomy for Plants. Disponível em <<http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?317403>> Acessado em 02 de abril de 2010.

VAN DEN BOOM, A.; SERRA-MAJEM, L.; RIBAS, L.; NGO, J.; PÉREZ-RODRIGO, C.; ARANCETA, J.; FLETCHER, E. The contribution of ready-to-eat cereals to daily nutrient intake and breakfast quality in a mediterranean setting. **Journal of the American College of Nutrition**, v.25, p.135-143, 2006.

VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J.; DELCOUR, J. A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinization behavior of granular starch. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 43-52, 2003.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration **Food Research International**, v.41, p. 876-881, 2008.

VENTURINI FILHO, W. G., CEREDA, M. P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p.156-161, 1998.

WOOD, P. J. Relationships between solution properties of cereal β -glucans and physiological effects – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v.13, p. 313-320, 2002.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; FEDEC, P.; BURROWS, V. D. Large-scale Preparation and Properties of Oat Fractions Enriched in (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucan. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 97-102, 1989.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; WOOD, P.J.; WEISZ, J.; BLACKWELL, B.A. Structural Studies of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucans by ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and by Rapid Analysis of Cellulose-like Regions using High-Performance Anion-Exchange Chromatography of oligosaccharides released by lichenase. **Cereal Chemistry**, v.71, p.301-307, 1994.

WOODWARD, J. R.; PHILIPS, D. R.; FINCHER, G. B. Water soluble (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. IV. Comparison of 40°C and 65°C soluble fractions. **Carbohydrate Polymers**, v. 8, p. 85–97, 1988.

WU, Y. V.; STRINGFELLOW, C.; INGLET, G. E. Protein and β -glucan enriched fractions from high-protein, high β -glucan barleys by sieving and air classification. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 220-223, 1994.

WURSCH, P.; PISUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes - A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. **Diabetes Care**, v.20, n.11, p.1774-1780, 1997.

XUE, Q.; WANG, L.; NEWMAN, R. K.; NEWMAN, C. W. and GRAHAM, H. Influence of the hulless, waxy starch and short-awn genes on the composition of barleys. **Journal of Cereal Science**, v. 26, p. 251-257, 1997.

YALÇIN, E.; ÇELİK, S.; AKAR, T.; SAYIM, I.; KÖKSEL, H. Effects of genotype and environment on β -glucan and dietary fiber contents of hull-less barleys grown in Turkey. **Food Chemistry**, v. 101, p. 171-176, 2007.

YASHODA K.P.; MODI V.K.; JAGANNATHA RAO R.; MAHENDRAKAR N.S. Eggs chips prepared by using different millet flours as binders and changes in product quality during storage. **Food Control**, v. 19, p. 170–177, 2008.

YOON, S. H.; BERGLUND, P. T.; FASTNAUGHT, C. E. Evaluation of selected barley cultivars and their fractions for β -glucan enrichment and viscosity. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 187–190, 1995.

ZAMORA, A. Carbohydrates - chemical structure. Disponível em <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates.html> . Acesso em 16 de dezembro de 2011.

ZHANG, G., CHEN, J., WANG, J. Variation in barley endosperm β -glucan content in three barley cultivars as a function of spike number and within spike. **Journal of Cereal Science**, v. 35, p. 99–101, 2002.

ZHENG, G. H.; BHATTY, R. S. Enzyme-assisted wet separation of starch from other seed components of hull-less barley. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 247-250, 1998.

CAPÍTULO 2

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA

2 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA

RESUMO

A maior parte da produção de cevada tem uso restrito na indústria de alimentos. Porém, a cevada possui β -glucanas como constituinte das paredes celulares do endosperma. Esta fibra solúvel afeta o metabolismo da glicose e colesterol e tem efeitos imunomodulatórios, além de desempenhar importante papel tecnológico em alimentos processados. O objetivo do trabalho foi avaliar a extração úmida das β -glucanas de cevada e caracterizá-las parcialmente. Quatorze tratamentos foram realizados de acordo com delineamento central composto rotacional (DCCR) com duas variáveis e cinco níveis. As variáveis independentes foram: pH (6,6;7;8;9 e 9,4) e temperatura (35,38,45,52 e 55 °C). A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi usada para avaliar a extração de β -glucanas de cevada através de análises químicas e reológicas, espectroscopia do infravermelho (FT-IR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A composição da farinha de cevada indica que esta é uma boa fonte para extração de β -glucanas. Pelas respostas foi possível observar que a temperatura do processo apresentou efeito linear e quadrático sobre a extração de β -glucanas, e a máxima concentração na fração foi de 53,4 %, obtida em temperaturas entre 43 e 49 °C, com contaminação de proteína e, principalmente, de amido. As β -glucanas extraídas apresentaram viscosidade aparente superior quando comparadas à amostra de β -glucanas comercial, mas ambas apresentaram comportamento pseudoplástico. Os resultados de FT-IR e MEV foram característicos de β -glucanas, semelhantes às β -glucanas comerciais. Portanto, é possível sugerir que o método de extração úmida de β -glucanas de cevada é uma alternativa viável para ampliação da utilização deste cereal na indústria de alimentos.

Palavras chave: cevada, β -glucanas, extração, caracterização, reologia, viscosidade.

ABSTRACT

Most of barley's production has a restricted use in the food industry. However, barley has β -glucans as constituent of its cell walls. This

soluble fiber affects glucose and cholesterol metabolism and has immuno-regulatory effects besides having an important technological role in processed foods. The objective of this work was to evaluate the humid extraction of barley β -glucans and partially characterize them. Fourteen treatment were conducted according to central composite design (CCRD) with two variable-five levels. The independent variables were: pH (6.6, 7, 8, 9 and 9.4) and temperature (35,38,45,52 and 55 ° C). The response surface methodology (RSM) was used to evaluate the extraction of β -glucan barley through chemical and rheological analysis, IR spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscopy (SEM). The composition of the barley flour suggested that it was a good source for β -glucans extraction. Through responses was observed that the process temperature showed both linear and quadratic effects upon the β -glucans extraction, and the maximum concentration in the fraction was of 53,4 %, obtained at temperatures between 43 and 49 ° C, protein and mainly starch contamination. The extracted β -glucans had an apparent viscosity higher than the commercial β -glucans, but both had pseudo-plastic behavior. FT-IR and SEM results were characteristic of β -glucans, similar to those of the commercial ones. Therefore, it is possible to suggest that the wet extraction method for barley β -glucans is a viable alternative for widening the utilization of this cereal in the food industry.

Key-words: barley, β -glucans, extraction, characterization, rheology, viscosity.

2.1 INTRODUÇÃO

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) ocupa a quarta posição mundial em produção de cereais (ARNGREN et al., 2011). Porém, tem sido pouco utilizada na alimentação humana, sendo destinada, em sua maioria, para alimentação animal e produção de malte cervejeiro (WÜRSCH; PI-SUNYER, 1997; ARNGREN et al., 2011). Sabor e aparência são fatores que têm limitado o uso de cevada na alimentação humana. No entanto, nos últimos anos tem havido um crescente interesse de pesquisa para a utilização de cevada em uma ampla gama de aplicações em alimentos (BHATTY, 1999; KÖKSEL; EDNEY; ÖZKAYA, 1999; BILGI; CELIK, 2004).

O aumento no número de pesquisas é devido ao fato da farinha de cevada possuir alto teor de fibra alimentar e alta proporção de fibras

solúveis, especialmente β -glucanas. Tornando-se um importante cereal do ponto de vista nutricional e funcional. β -Glucana é o nome trivial para o polímero de glicose (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glucopiranosose, o mais abundante componente da fração fibra alimentar solúvel tanto na aveia quanto na cevada (JOHANSSON et al., 2008). Esta tem sido amplamente estudada por sua estrutura e propriedades (WOOD; WEISZ; BLACKWELL, 1994; IZYDORCZYK; MACRI; MACGREGOR, 1998a,b; BÖHM; KULICKE, 1999a,b; REN et al., 2003).

Estudos nutricionais tem demonstrado ligação entre o consumo regular de cereais contendo β -glucanas em concentrações recomendadas e a redução dos riscos de problemas crônicos de saúde; como os associados às doenças cardiovasculares, através da diminuição do colesterol sanguíneo; e os associados ao diabetes, através da regulação dos níveis sanguíneos de glicose (CAVALLERO et al., 2002; LI et al., 2003).

Além da sua importância nutricional, as β -glucanas apresentam importante papel tecnológico em alimentos processados, podendo ser utilizadas como espessante e estabilizante não calóricos; auxiliar na fabricação de queijos e sorvetes; substituir gordura em produtos lácteos e de confeitaria (WURCSH; PISUNYER, 1997; CARR et al., 1990), formar géis e ser usada no desenvolvimento de produtos com alto teor de fibras alimentares (REED; NAGODAWITHANA, 1991).

As indústrias de alimentos e suplementos estão cada vez mais interessadas em concentrar este componente bioativo de grãos em escala comercial, o que lhes permite incorporar β -glucanas como ingrediente em formulações de seus produtos (VASANTHAN; TEMELLI, 2008).

Técnicas para isolamento de β -glucanas a partir de cevada e aveia foram avaliadas por diversos autores, entre elas moagem e peneiramento a seco (KNUCKLES et al., 1992; SUNDBERG; AMAN, 1994; WU et al., 1994); e extração com solvente (WOOD et al., 1989; BHATTY, 1993; TEMELLI, 1997; LI; CUI; KAKUDA, 2006; VASANTHAN; TEMELLI, 2008). Processos envolvendo α -amilase também têm sido investigados para a preparação de concentrados de β -glucanas a partir de cevada e aveia, através da hidrólise do amido (SAULNIER; GÉVAUDAN; THIBAUT, 1994; GHOTRA et al., 2007).

Resultados de diversos estudos revelaram que temperatura e pH têm efeito significativo sobre a extração e propriedades das β -glucanas. As condições de extração podem afetar as propriedades físico-químicas

e funcionais das β -glucanas extraídas (AHMAD et al., 2010), a alta viscosidade nativa é muitas vezes reduzida devido à extração de β -glucanas (BURKUS E TEMELLI, 2005).

Existe a necessidade de explorar a possibilidade de aumento do consumo de cevada e produtos relacionados para alimentação humana, através do desenvolvimento de produtos com valor agregado. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a extração úmida de β -glucanas de cevada e caracterizá-las parcialmente.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amostra

Foi utilizada no estudo farinha de cevada integral, proveniente da cultivar BRS 195, obtida de acordo com o Anexo A. A amostra foi fornecida pela SL Alimentos Ltda, Londrina, Brasil.

A amostra de β -glucanas extraída foi comparada com uma amostra de β -glucanas comercial - Barliv® - fornecida pela Cargill, Baupre, França. Assim, todas as análises desenvolvidas para as β -glucanas extraídas também foram aplicadas na amostra de β -glucanas comercial.

2.2.2 Extração de β -glucanas

Para a extração de β -glucanas de cevada foi utilizada metodologia descrita por Wood et al. (1978), adaptada por Temelli (1997), com modificações. A amostra de farinha de cevada (50 g) foi misturada a 500 mL de água destilada, com pH ajustado de acordo com o planejamento (item 2.2.7) usando carbonato de cálcio (20 % p/v) e aquecida em banho com agitação por 30 minutos a temperaturas definidas pelo planejamento (item 2.2.7), para precipitação do amido. A solução foi centrifugada a 4940 g /30 min a 4°C. O resíduo foi removido e o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,5 com HCl 2 mol.L⁻¹, para precipitação das proteínas, seguido de centrifugação a 4940 g /30 min a 4 °C. O resíduo proteico foi descartado e ao sobrenadante foi adicionado igual volume de etanol p.a. para precipitação das β -glucanas. Após 12 horas a 4 °C, a solução foi centrifugada a 3780 g /10 min a 4 °C. O precipitado foi recuperado e ressuspenso em etanol p.a., filtrado, lavado com etanol p.a. e seco em estufa (modelo 400/D 200 °C, marca Nova Ética®) a 25

°C com circulação forçada de ar durante 1,5 horas. O extrato seco de β -glucanas permaneceu em dessecador por 24 horas e foi pulverizado com auxílio de nitrogênio líquido.

2.2.3 Análises químicas

A fração de β -glucanas foi caracterizada quimicamente pela determinação de proteína (Kjeldahl N x 6,25), amido total e β -glucanas, sendo que para os dois últimos foi utilizado kit enzimático da Megazyme Internacional Ireland Ltd. Além destes componentes, na farinha de cevada utilizada no estudo foram avaliados teor de umidade, fibra alimentar solúvel e insolúvel, lipídeos e cinzas. Todas estas análises foram conduzidas utilizando metodologia oficial da *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000).

Para o teor de amilose aparente da farinha de cevada, foi utilizado o método *iodine sorption: Blue Value* (GILBERT; SPRAGG, 1964).

2.2.4 Medidas reológicas

Para a caracterização do comportamento reológico foram preparadas dispersões aquosas de 1% (p/v) de β -glucanas bruta e comercial (Barliv® - Cargill) a 80°C (1 hora), seguida de agitação continua por duas horas sem aquecimento. Isso garantiu completa hidratação e dispersão da amostra. As medidas reológicas foram determinadas em um reômetro rotacional (*Brookfield Engineering Laboratories model RVDV-III Ultra*, Stoughton, MA, USA) com cilindros concêntricos, *spindle* ULA e os dados processados através do *software Rheocalc® 32* (versão 2.5). Foram utilizadas quatro temperaturas (25, 45, 65 e 85 °C) para avaliação do comportamento reológico das dispersões de β -glucanas bruta e comercial. Para a amostra de β -glucanas bruta utilizou-se um intervalo de taxa de deformação de 24 a 96 s⁻¹, enquanto para as β -glucanas comerciais utilizou-se um intervalo de taxa de deformação de 61 a 157 s⁻¹.

2.2.5 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho foi realizada no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, com equipamento da marca ABB Bomem, modelo FTLA 2000-100.

O método utilizado foi FT-IR de sólido em KBr. O KBr foi pulverizado em gral e pistilo de ágata, adicionou-se a amostra, que também foi pulverizada juntamente com o KBr. Do pó resultante, fez-se uma pastilha através de pastilhador com pressão de 10 toneladas. A pastilha resultante foi analisada por transmitância da faixa do infravermelho e o resultado é uma FTIR. Foram realizadas 12 varreduras com resolução de 2 cm^{-1} .

2.2.6 Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no laboratório central de microscopia eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina. As amostras foram fixadas em suportes de alumínio, com auxílio de fita carbono dupla face, revestidas com duas camadas de ouro, de 200 Å de espessura cada uma utilizando equipamento Baltec sputter coater, modelo SCD 005. A visualização e fotografia das amostras foram feitas com o Microscópio Eletrônico de Varredura JEOL JSM-6390LV, a uma voltagem de aceleração de 10 kV.

2.2.7 Desenho experimental e análise estatística

Para a variável dependente extração de β -glucanas foi empregada metodologia de superfície de resposta (MSR) através de delineamento central composto rotacional (DCCR) ajustado um modelo de regressão de segunda ordem. Foram utilizados dois fatores, ou variáveis independentes: pH de extração do amido e temperatura do banho para extração. Os níveis de variação dos fatores estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 Variáveis do processo de extração e níveis de variação.

Variáveis independentes	Níveis de variação				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
x= pH	6,6	7	8	9	9,4
y= Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	35	38	45	52	55

$$\alpha=1,414$$

O delineamento central composto rotacional adotado inclui um total de 14 tratamentos: 4 tratamentos correspondentes a um fatorial completo 2^2 , onde os dois fatores foram: pH= pH de extração do amido e T=temperatura de extração ($^{\circ}\text{C}$), cada um com dois níveis codificados como -1 e +1; 4 tratamentos incluindo o nível mínimo e máximo de cada um dos fatores codificados como $-\alpha$ e $+\alpha$, onde $\alpha = (2^2)^{1/4} = 1,414$; 6 repetições do tratamento central para estimar o erro puro, em que todos os fatores estavam em um nível médio codificado como zero (Tabela 1).

A fórmula geral do modelo preditivo é representada pela Equação 1.

$$y = \beta_0 + \beta_1 * x_1 + \beta_2 * x_2 + \beta_{11} * (x_1)^2 + \beta_{22} * (x_2)^2 + \beta_{12} * x_1 x_2 + \varepsilon$$

(Equação 1)

Onde:

y= função resposta genérica ou variável dependente.

x_1, x_2 = níveis codificados das variáveis independentes.

β_0 = intercepto ou ponto central do sistema.

β 's= coeficientes estimados pelo método dos mínimos quadrados

ε = resíduo que mede o erro experimental, apresentando uma distribuição normal com média zero e variância igual a s^2 .

O modelo de regressão de segunda ordem estimado é representado pela Equação 2:

$$z = b_0 + b_1 * x + b_{11} * (x)^2 + b_2 * y + b_{22} * (y)^2 + b_{12} * x * y + 0$$

(Equação 2).

Onde:

z= resultado estimado (% de extração de β -glucanas).

x= pH de extração do amido.

y= temperatura do banho de extração.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Caracterização da farinha de cevada

A composição da farinha de cevada utilizada no estudo foi 10,56 % de umidade, 10,69 % de proteína, 2,44 % de lipídeos, 1,35 % de

cinzas, 10,19 % de fibra alimentar insolúvel e 5,06 % de fibra alimentar solúvel (Tabela 2). O teor de β -glucanas foi 4,75 % e o de amido foi de 58,07 %. Resultados semelhantes foram descritos por Fujita e Figueroa (2003) para cultivares brasileiros de cevada.

Tabela 2 Composição da farinha de cevada.

Componente	%
Amido	58,07 \pm 2,49
Amilose aparente	18,38 \pm 2,51
Proteínas	10,69 \pm 0,10
Lipídeos	2,44 \pm 0,12
Cinzas	1,35 \pm 0,12
Fibra insolúvel	10,19 \pm 0,28
Fibra solúvel	5,06 \pm 0,75
β -glucanas	4,74 \pm 0,06

Os resultados são, em base seca, média \pm desvio padrão.

O teor de amilose aparente (18,38 %) caracteriza um percentual de amido normal (Tabela 2), pois, segundo Blazek e Copeland (2008), o amido pode ser caracterizado de acordo com o teor de amilose, sendo de até 2% para o amido ceroso, de até 34% para o amido normal e de até 43% para amido com alto teor de amilose.

A composição da farinha de cevada indica que esta é uma boa fonte para o isolamento de β -glucanas e amido, devido ao elevado teor destes componentes e reduzido teor lipídico, o que facilita a extração.

2.3.2 Avaliação da extração de β -glucanas de cevada

Os coeficientes de regressão para a equação geral estão demonstrados na Tabela 3.

O percentual de β -glucanas no concentrado obtido após a extração variou de 44,21 a 53,38 %. O efeito do pH não foi significativo, todavia, a temperatura apresentou efeito linear e quadrático sobre a extração. O rendimento de β -glucanas foi maior para temperaturas entre 43 e 49 °C (Figura 1).

A temperatura de extração de β -glucanas está relacionada com a solubilidade, que aumenta com a temperatura, permitindo assim que esta permaneça solubilizada no sobrenadante. Porém, em temperaturas superiores pode haver também a solubilização do amido, o que explica a

redução do percentual de β -glucanas extraído em temperaturas superiores. Wood, Siddiqui e Paton (1978) demonstraram um aumento na extração de β -glucanas de aveia nas temperaturas de 45 até 63 °C, segundo os autores, a definição da faixa de temperatura ótima para não contaminar o extrato com amido.

Tabela 3 Coeficientes de regressão para a extração de β -glucanas (em variáveis reais).

Parâmetro	Variável Resposta
	β -glucanas
b_0	-189,564
b_1	20,554
b_2	7,250*
b_{11}	-1,015
b_{22}	-0,070*
b_{12}	-0,114
R^2	0,76728

b_1 =coeficiente de pH; b_2 =coeficiente de temperatura; (*= $P<0,01$).

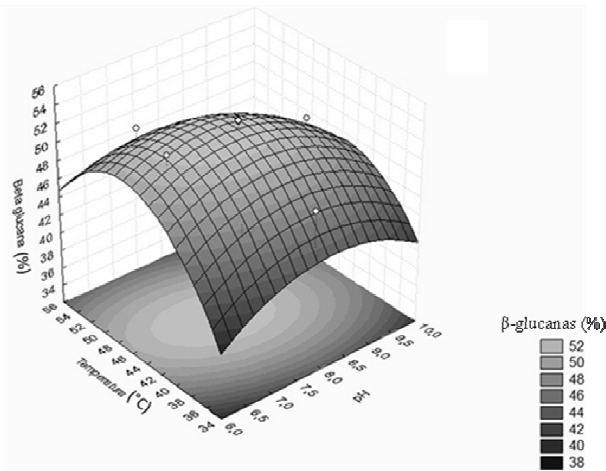


Figura 1 Efeito do pH e da temperatura no teor de β -glucanas extraídas da cevada

Mällki e colaboradores (1992) desenvolveram uma combinação de operações de moagem seca e úmida com etanol e produziram um concentrado de farelo de aveia contendo 15-20% de β -glucanas, valores inferiores ao do presente estudo.

Burkus e Temelli (2005) obtiveram um conteúdo de 71,1% de β -glucanas em seu estudo utilizando pH 9,4 e temperatura de 53-55 °C extraída de uma mistura de dois cultivares experimentais de cevada cerosa. Temelli (1997), utilizando metodologia semelhante, encontrou resultados superiores para o teor de β -glucanas extraído. Tendo um conteúdo de 86,5 % a 55°C em pH 7 e 8. O maior rendimento obtido por estes autores pode estar relacionado ao tipo de cevada utilizada e à utilização de velocidades de centrifugação superiores.

2.3.3. Caracterização das β -glucanas extraídas

2.3.3.1 Análises químicas

Após a extração, a fração extraída de β -glucanas a 45 °C e pH 8,0 apresentou 53 % deste componente, sendo inferior ao demonstrado pelas β -glucanas comerciais (71 %), sendo que ambas apresentaram amido e proteína (Tabela 4). A amostra de β -glucanas extraída possui maior quantidade de amido, quando comparada às β -glucanas comerciais, este fato pode ser explicado por uma solubilização parcial do amido durante o processo de extração utilizado no estudo.

Outros pesquisadores também relataram a extração de amido, proteínas e outros componentes, juntamente com as β -glucanas (WOOD, 2002; BURKUS; TEMELLI, 2005). Ahmad e colaboradores (2010) relataram em seu estudo valores de extração de proteína juntamente com as β -glucanas de aveia semelhantes, utilizando o mesmo princípio de extração.

Mikkelsen e colaboradores (2010) sugerem que a purificação de β -glucanas extraída utilizando tratamentos enzimáticos seria eficiente na remoção de impurezas como amido e proteínas.

Tabela 4 Composição (%) das β -glucanas extraída e comercial

Amostra	β-glucanas	Amido	Proteína
Extraída	53 \pm 0,8	13,83 \pm 0,2	4,15 \pm 0,2
Comercial	71 \pm 0,5	1,53 \pm 0,1	2,59 \pm 0,1

Os resultados são, em base seca, média \pm desvio padrão.

2.3.3.2 Medidas Reológicas

A viscosidade aparente da amostra extraída (Figura 2A), nas diferentes temperaturas testadas, foi superior a viscosidade da amostra comercial (Figura 2B). Ambas demonstraram diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, em menor grau para a amostra de β -glucanas comercial. Portanto, sugere-se que o comportamento descrito tanto para β -glucanas extraída quanto comercial pode ser descrito como pseudoplástico. Wood et al. (1989) e Bhatti (1995) também demonstraram o comportamento pseudoplástico para soluções de β -glucanas de aveia e cevada.

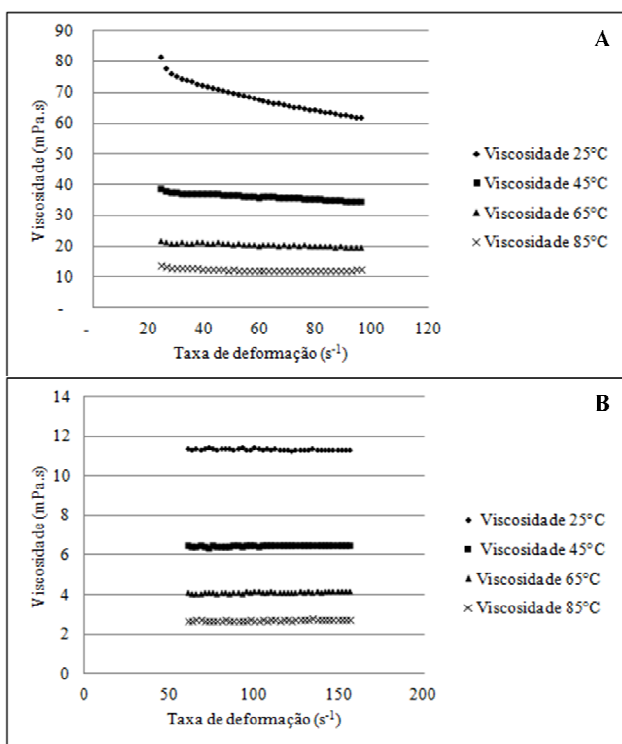


Figura 2 Relação da viscosidade aparente x taxa de deformação das β -glucanas extraídas (A) e das β -glucanas comerciais (B), em diferentes temperaturas.

A presença de outros componentes que não β -glucanas na fração extraída é outro fator importante responsável pela alteração da viscosidade (FARAJ; VASANTHAN; HOOVER, 2006). Portanto, a diferença na composição relacionada ao amido e a proteína (Tabela 4) pode ser responsável pela diferença de comportamento demonstrada entre β -glucanas extraída e comercial, uma vez que na dispersão das β -glucanas esta é submetida à temperatura capaz de gelatinizar o amido presente. Bhattý (1995) faz essa sugestão em seu estudo, onde quatro preparações de β -glucanas com composição química variável apresentaram comportamento de viscosidade diferentes. De acordo com o mesmo autor, as diferenças de viscosidade das β -glucanas também podem ser explicadas em termos de diferenças no tamanho molecular e microestrutura que influencia as propriedades físicas (BHATTY, 1995).

Com aumento na taxa de cisalhamento, houve apenas leve diminuição da viscosidade para β -glucanas comerciais em todas as temperaturas avaliadas e para β -glucanas extraída em temperaturas maiores. Wood et al. (1989) reportaram queda na viscosidade de β -glucanas de aveia com taxas de cisalhamento $<100 \text{ s}^{-1}$, mas sem perda de viscosidade aparente em taxas de cisalhamento de até 1.500 s^{-1} .

Outro fator importante que afeta a viscosidade dos extratos de β -glucanas é o nível de atividade da β -glucanase endógena e a extensão da hidrólise de β -glucanas durante a extração. Refluxo da farinha com o etanol 70-80% tem sido adotado por alguns pesquisadores (WOOD et al., 1978; SAULNIER; GÉVAUDAN; THIBAUT, 1994) para inativar glucanases antes da extração. No entanto, esse tratamento não foi incluído neste estudo.

Burkus e Temelli (2005) encontraram valores maiores de viscosidade em amostras de β -glucanas extraídas de cevada utilizando α -amilase para purificação. Segundo Ahmad e colaboradores (2010) métodos de extração ácidas e alcalinas reduzem a viscosidade de β -glucanas extraídas.

As propriedades do fluxo foram expressas pela lei de potência no qual k e n são as constantes, quanto menor o valor de n (índice de comportamento do fluxo), maior é a sensibilidade ao cisalhamento.

Os resultados variaram de 0,836 a 0,903 de acordo com o aumento da temperatura para β -glucanas extraídas (Tabela 5) e de 0,980 a 1,027 para β -glucanas comerciais (Tabela 5).

Bhattý (1995) relatou um índice de comportamento de fluxo $>0,7$ tanto para β -glucanas de cevada quanto para β -glucanas de aveia. A

pseudoplasticidade das β -glucanas já é um fato estabelecido, apresentando elevado índice de consistência (k) alto e baixo índice de comportamento de fluxo (n), que são parâmetros da Lei da Potência (AUTIO et al., 1992; BURKUS; TEMELLI, 2005).

Tabela 5 Parâmetros reológicos obtidos utilizando o modelo da Lei da Potência ($\eta = k(\dot{\gamma})^{n-1}$) e a viscosidade aparente das β -glucanas extraídas e comerciais, em diferentes temperaturas.

Amostra	Índice de consistência (k , Pa.s ⁻¹)	Índice de Comportamento de fluxo (n)	Viscosidade aparente (Pa.s ⁻¹)*	R ²
Extraída				
25°C	0,137	0,836	67	0,99
45°C	0,051	0,922	37	0,99
65°C	0,026	0,934	19	0,99
85°C	0,016	0,903	11	0,99
Comercial				
25°C	0,015	0,980	11	0,99
45°C	0,006	1,003	7	0,99
65°C	0,004	1,024	4	0,99
85°C	0,002	1,027	4	0,99

*Viscosidade aparente a uma taxa de deformação de 76 s⁻¹.

Geralmente, a viscosidade aparente diminui com a temperatura, esta provoca alterações reversíveis na viscosidade de β -glucanas (DAWKINS; NNANNA, 1995). Portanto, como esperado, a viscosidade aparente das β -glucanas comerciais e extraídas diminuiu com o aumento da temperatura na faixa estudada (Tabela 5 e Figura 2). Elleuch et al. (2011) observaram aumento da viscosidade com o aumento da concentração e diminuição da viscosidade com o aumento da temperatura para uma solução de fibras solúveis (β -glucanas).

Os valores de índice de comportamento de fluxo ligeiramente superiores a 1,00 encontrados para β -glucanas comerciais não são esperados para o comportamento pseudoplástico característico de β -glucanas. Tal anormalidade no comportamento pode ser explicado pelo fato de que, em temperaturas elevadas, pode ter ocorrido evaporação do solvente (água).

Apesar da mudança na temperatura, o índice de comportamento do fluxo foi $>0,98$ para soluções de β -glucanas comerciais na faixa de temperatura estudada ($25-85^{\circ}\text{C}$) (Tabela 5), enquanto que para as soluções de β -glucanas extraídas o índice de comportamento do fluxo aumentou de 0,836 em 25°C para 0,903 em 85°C (Tabela 5), o que segundo Burkus e Temelli (2005) demonstra uma transição para o comportamento pseudoplástico.

Em geral, os perfis de temperatura de viscosidade de β -glucanas são importantes parâmetros funcionais, bem como de processo na indústria de alimentos (MIKKELSEN et al., 2010). Considerando que a viscosidade das β -glucanas é responsável pela regulação da glicose e redução do colesterol sérico em indivíduos hipercolesterolêmicos (WOOD, 2002), é possível sugerir que a amostra de β -glucanas extraídas possuem características de viscosidade para esta função.

A queda reversível da viscosidade com o aumento da temperatura pode ser útil no processamento industrial de β -glucanas, uma vez que permite fácil bombeamento e agitação levando à redução no consumo de energia (BURKUS; TEMELLI, 2005).

2.3.3.3 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia do infravermelho permite medir as vibrações moleculares de ligações covalentes. A região IR $4000-200\text{ cm}^{-1}$ fornece informações sobre as vibrações fundamentais (ZACHARIASSEN et al., 2005). O espectro de infravermelho das β -glucanas extraídas e comerciais encontra-se na Figura 4.

No espectro das β -glucanas de cevada, extraída e comercial, na região de $4.000-3.000\text{ cm}^{-1}$, observa-se uma banda larga com máxima absorção (mínima transmitância) em 3424 cm^{-1} e 3434 cm^{-1} , respectivamente. O que pode ser atribuído aos modos normais vibracionais de estiramentos assimétricos e simétricos dos grupos OH. Polissacarídeos contêm pronunciado número de grupamentos OH, que exibem uma banda de absorção acima de 3000 cm^{-1} (WANG et al., 2008).

A absorção máxima em 2928 cm^{-1} (extraída) e 2919 cm^{-1} (comercial) na região de $3.000-2840\text{ cm}^{-1}$ do espectro pode ser atribuída aos valores relativos dos modos vibracionais de estiramento assimétrico e simétrico de grupos CH (VIEIRA, 1998).

A absorção forte em 1651 cm^{-1} para β -glucanas extraídas e 1631 cm^{-1} para β -glucanas comerciais no espectro foram devido ao alongamento de grupos CN e grupos NH de proteínas e conforme Ahmad e colaboradores (2010) indica a presença de ligações amida, demonstrando a presença de proteína na amostra (WANG et al., 2008). Estes resultados estão de acordo com a avaliação química, que indica presença de proteína em ambas as amostras.

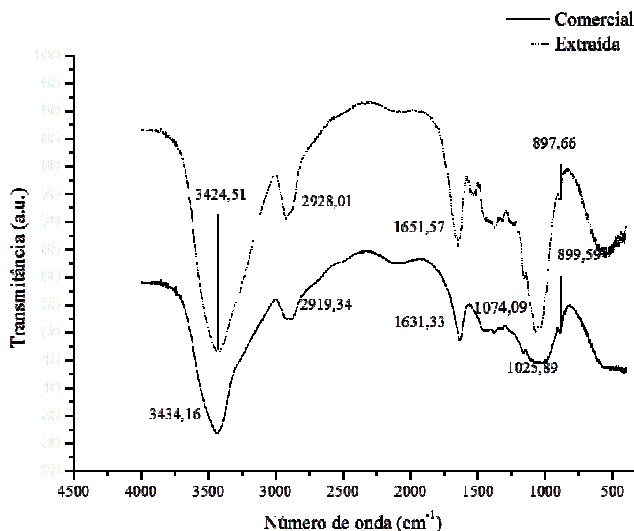


Figura 3 Espectro no infravermelho da β -glucanas extraídas e β -glucanas comerciais.

A região de 1285 a 242 cm^{-1} , apresentou pico com absorção máxima a 1074 cm^{-1} (extraída) e 1025 cm^{-1} (comercial), correspondendo, segundo Wang e colaboradores (2008) a ligações COC e CO, de um anel de D-glicose; sendo vibrações de rede em que todos os átomos da cadeia da macromolécula vibram em fase e também os modos normais resultantes do acoplamento dos estiramentos CC e CO (VIEIRA, 1998). Portanto, os picos em 1074 cm^{-1} para amostra extraída e 1025 cm^{-1} para a comercial, indicam a presença de ligações glicosídicas e estruturas cíclicas de monossacarídeos.

Segundo Mikkelsen e colaboradores (2010), o amido está associado a bandas 930 e 1078 cm^{-1} , a banda 1074 cm^{-1} é forte na amostra de β -glucanas extraída, o que demonstra maior presença de amido. O pico mostrado no espectro da amostra de β -glucanas extraída está de acordo com as análises químicas, as quais indicam maior quantidade deste componente quando comparada à amostra de β -glucanas comercial.

Johansson e colaboradores (2004) relataram espectros similares (4000 -650 cm^{-1}) para amostra de β -glucanas de cevada.

Hidratos de carbono podem ser reconhecidos por picos em números de onda de 1.040 cm^{-1} (CO vínculo do grupo álcool), 2.940 cm^{-1} (estiramento CH) e 3.400 cm^{-1} (estiramento OH) (WANG et al., 2008).

Também é importante notar que os espectros mostraram picos de absorção em 987 cm^{-1} para a amostra extraída e 899 cm^{-1} para a amostra comercial, o que é indicativo de ligações glicosídicas β -anoméricas (GUTIÉRREZ et al., 1996; MIKKELSEN et al., 2010).

Os parâmetros avaliados na caracterização parcial de β -glucanas extraídas são comparados favoravelmente ao de β -glucanas comerciais com elevado grau de pureza.

2.3.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

De uma maneira geral, a morfologia das duas amostras de β -glucanas analisadas, extraída e comercial, foi semelhante (Figura 3), com aparência esponjosa e porosa, especialmente sem nenhum traço de estrutura da parede celular; porém a distribuição de tamanho e formato das partículas apresentou algumas diferenças.

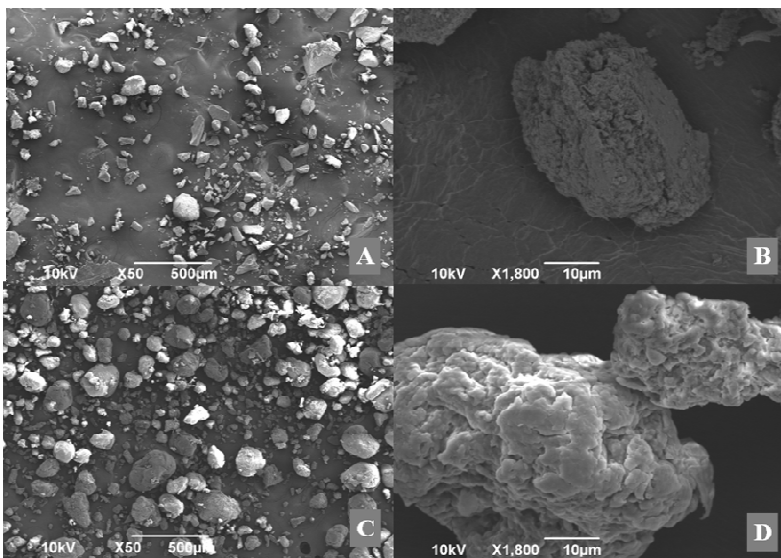


Figura 4 Microscopia eletrônica de varredura das β -glucanas de cevada extraídas (A e B) e comerciais (C e D).

A microscopia eletrônica de varredura das amostras, revelou que as β -glucanas extraídas (Figura 3A e 3B) possuem menor tamanho de partícula e distribuição irregular. As partículas apresentadas apresentam poucos aglomerados de estrutura arredondada e partículas menores com formato geométrico, enquanto a amostra comercial (Figura 3C e 3D) possui aglomerados maiores, arredondados e mais homogêneos. A micrografia de um aglomerado da amostra extraída (Figura 3B) apresenta estrutura mais porosa e esponjosa que a amostra comercial (Figura 3D). As partículas menores da amostra extraída parecem ter consistência mais sólida.

As diferenças estruturais entre as amostras de β -glucanas extraída e comercial provavelmente é consequência do método de extração utilizado, principalmente na etapa relacionada à secagem e pulverização. O método de secagem utilizado no estudo foi em estufa com circulação de ar forçado e posterior pulverização com auxílio de nitrogênio líquido, o que pode ter refletido diretamente na estrutura do componente. É possível sugerir que, com a substituição desta etapa da extração por outro método, como a liofilização, seja possível obter um produto estruturalmente igual às β -glucanas comerciais.

Vasanthan e Temelli (2008) também demonstraram microestrutura com características semelhantes a deste estudo para β -glucanas de cevada obtidas por extração aquosa alcalina.

2.4 CONCLUSÕES

A amostra de β -glucanas extraída a partir de farinha de cevada apresentou elevado teor deste componente. Porém, houve contaminação da amostra extraída com amido e proteína. As propriedades de fluxo, a espectroscopia na região do infravermelho e a microscopia eletrônica de varredura foram características de β -glucanas. Portanto, é possível sugerir que a amostra de β -glucanas extraídas de cevada apresentam potencial como espessante ou estabilizante em produtos da indústria de alimentos, devido à semelhança entre suas características e as de amostra de β -glucanas comerciais, ampliando a utilização da cevada na indústria alimentícia.

REFERÊNCIAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of AACC**. Edition 9, St Paul, 2000.

AHMAD, A.; ANJUMB, F. M.; ZAHOOB, T.; NAWAZ, H.; AHMED, Z. Extraction and characterization of β -D-glucan from oat for industrial utilization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, p. 304–309, 2010.

ARNGREN, M.; HANSEN, P. W.; ERIKSEN, B.; LARSEN, J.; LARSEN, R. Analysis of pregerminated barley using hyperspectral image analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 59, p. 11385–11394, 2011.

AUTIO, K.; MYLLYMAKI, O.; SUORTTI, T.; SAASTAMOINEN, M.; POUTANEN, K. Physical properties of (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan prepolymers isolated from Finnish oat varieties. **Food Hydrocolloids**, v. 5, p. 513–522, 1992.

GHOTRA, B. S.; VASANTHAN, T.; WETTASINGHE, M.; TEMELLI, F. ^{31}P -nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of

phosphorus in oat and barley β -glucans. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1056–1061, 2007.

BHATTY, R. S. Extraction and enrichment of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan from barley and oat brans. **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 73-77, 1993.

BHATTY, R.S. Laboratory and pilot plant extraction and purification of β -glucans from hullless barley and oat brans. **Journal of Cereal Science**, v. 22, p. 163-170, 1995.

BHATTY, R. S. Beta-glucan and flour yield of hull-less barley. **Cereal Chemistry**, v. 76, p. 314-315, 1999.

BLAZEK, J.; COPELAND, L. Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylase content. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 380-387, 2008.

BILGI B.; CELIK S. Solubility and emulsifying properties of barley protein concentrate. **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 437–441, 2004.

BÖHM, N.; KULICKE, W. M. Rheological studies of barley (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -glucan in concentrated solution: investigation of the viscoelastic flow behaviour in the sol-state. **Carbohydrate Research**, v. 315, p. 293–301, 1999a.

BÖHM, N.; KULICKE, W. M. Rheological studies of barley (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -glucan in concentrated solution: mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. **Carbohydrate Research**, v. 315, p. 302–311, 1999b.

BURKUS, Z.; TEMELLI, F. Rheological properties of barley β -glucan. **Carbohydrate Polymers**, v.59, p.459-465, 2005.

CARR, J. M.; GLATTER, S.; JERACI, J. L.; LEWIS, B. A. Enzymic determination of β -glucan in cereal-based food products. **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 226-229, 1990.

CAVALLERO, A.; EMPILLI, S.; BRIGHENTI, F.; STANCA, A. M. High (1→3,1→4)-β-Glucan Barley Fractions in Bread Making and their Effects on Human Glycemic Response. **Journal of Cereal Science**, v. 36, p. 59–66, 2002.

DAWKINS, N. L.; NNANNA, I. A. Studies on oat gum [(1/3, 1/4)-b-D-glucan]: composition, molecular weight estimation and rheological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 9, p. 1–7, 1995.

ELLEUCH, M.; BEDIGIAN, D.; ROISEUX, O.; BESBES, S.; BLECKER, C.; ATTIA, H. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. **Food Chemistry**, v. 124p. 411–421, 2011.

FARAJ, A.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R. The influence of α-amylase-hydrolysed barley starch fractions on the viscosity of low and high purity barley β-glucan concentrates. **Food Chemistry**, v. 96, p. 56–65, 2006.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β-glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 116-120, 2003.

GHOTRA, B. S.; VASANTHAN, T.; WETTASINGHE, M.; TEMELLI, F. P-31-nuclear magnetic resonance spectroscopic analysis of phosphorus in oat and barley beta-glucans. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1056-1061, 2007.

GILBERT, G. A.; SPRAGG, S. P. Iodine Sorption: Blue Value. In Whistler, R. L. et al. *Methods in Carbohydrate Chemistry*. London: Academic Press, p. 168-169, 1964.

GUTIERREZ, A.; PRIETO, A.; MARTINEZ, A. T. Structural characterization of extracellular polysaccharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. **Carbohydrate Research**, v. 281, p. 143–154, 1996.

IZYDORCZYK, M. S.; MACRI, L. J.; MACGREGOR, A. W. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides - I. Water-extractable β -glucans and arabinoxylans. **Carbohydrate Polymers**, v. 35, p. 249-258, 1998a.

IZYDORCZYK, M. S.; MACRI, L. J.; MACGREGOR, A. W. Structure and physicochemical properties of barley non-starch polysaccharides - II. Alkali-extractable β -glucans and arabinoxylans. **Carbohydrate Polymers**, v. 35, p. 259-269, 1998b.

JOHANSSON, L.; TUOMAINEN, P.; YLINEN, M.; EKHOLM, P.; VIRKKI, L. Structural analysis of water-soluble and -insoluble β -glucans of whole-grain oats and barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 267-274, 2004.

JOHANSSON, L.; KARESOJA, M.; EKHOLM, P.; VIRKKI, L., TENHU H. Comparison of the solution properties of (1-3),(1-4)- β -D-glucans extracted from oats and barley, **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 41, p. 180-184, 2008.

KNUCKLES, B. E.; CHIU, M. M.; BETSCHART, A. A. β -Glucan-enriched fractions from laboratory-scale dry milling and sieving of barley and oats. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 198-202, 1992.

KÖKSEL, H.; EDNEY, M. J.; ÖZKAYA, B. Barley Bulgur: effect of processing and cooking on chemical composition. **Journal of Cereal Science**, v. 29, p. 185-190, 1999.

LI, J.; KANEKO, T.; QIN, L.Q.; WANG, J.; WANG, Y. Effects of barley intake on glucose tolerance, lipid metabolism, and bowel function in women. **Nutrition**, v. 19, p. 926-929, 2003.

LI, W., CUI, S. W.; KAKUDA, Y. Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β -D-glucans. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, p. 408-416, 2006.

MÄLKKI, Y.; MYLLYMÄKI, O.; AUTIO, K.; SUORTTI, T. Preparation and properties of oat bran concentrates. **Cereal Foods World**, v. 37, p. 693-700, 1992.

MIKKELSEN, M. S.; JESPERSEN, B. M.; MOLLER, B. L.; LAERKE, H. N.; LARSEN, F. H.; ENGELSEN, S. B. Comparative spectroscopic and rheological studies on crude and purified soluble barley and oat β -glucan preparations. **Food Research International**, v. 43, p. 2417–2424, 2010.

REED, G.; NAGODAWITHANA, W. T. **Yeast Technology**, 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991, 454p.

REN, Y.; ELLIS, P. R.; ROSS-MURPHY, S. B.; WANG, Q.; WOOD, P. J. Dilute and semi-dilute solution properties of (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan, the endosperm cell wall polysaccharide of oats (*Avena sativa* L.). **Carbohydrate Polymers**, v. 53, p. 401–408, 2003.

SAULNIER, L.; GÉVAUDAN, S.; THIBAUT, J. F. Extraction and partial characterization of β -glucan from the endosperms of two barley cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 171-178, 1994.

SUNDBERG, B. ; ÅMAN, P. Fractionation of different types of barley by roller milling and sieving. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 179-184, 1994.

TEMELLI, F. Extraction and Functional Properties of Barley β -Glucan as Affected by Temperature and pH. **Journal of Food Science**, v. 62, p. 1194-1198, 1997.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration **Food Research International**, v.41, p 876-881, 2008.

VIEIRA, L. P. **Estudo de propriedades do sistema macromolecular amido por espectroscopia vibracional na região do infravermelho**. 1998. Tese (Magister Scientiae) Curso de Agroquímica, Universidade federal de Viçosa, Viçosa, MG.

WANG, Y.; AHMED, Z.; FENG, W.; LI, C.; SONG, S. Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 43, p. 283–288, 2008.

WOOD, P. J.; SIDDIQUI, I. R.; PATON, D. Extraction of high-viscosity gums from oats. **Cereal Chemistry**, v.55, p. 1038-1049, 1978.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; FEDEC, P.; BURROWS, V. D. Large-scale Preparation and Properties of Oat Fractions Enriched in (1→3)(1→4)-β-D-Glucan. **Cereal Chemistry**, v.66, p. 97-102, 1989.

WOOD, P. J.; WEISZ, J.; BLACKWELL, B. A. Structural studies of (1-3),(1-4)-beta-d-glucans by c(13)-nuclear magnetic-ressonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 301-307, 1994.

WOOD, P. J. Relationships between solution properties of cereal β-glucans and physiological effects – A review. **Trends in Food Science and Technology**, v.13, p. 313-320, 2002.

WU, Y. V.; STRINGFELLOW, C.; INGLETT, G. E. Protein and β-glucan enriched fractions from high-protein, high β-glucan barleys by sieving and air classification. **Cereal Chemistry**, v. 71, p. 220-223, 1994.

WURSCH, P.; PISUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes - A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. **Diabetes Care**, v.20, n.11, p.1774-1780, 1997.

ZACHARIASSEN, C. B.; LARSEN, J.; BERG, F; ENGELSEN, S. B. Use of NIR spectroscopy and chemometrics for on-line process monitoring of ammonia in Low Methoxylated Amidated pectin production. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 76, p. 149– 161, 2005.

CAPÍTULO 3

EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO AMIDO RESIDUAL

Artigo publicado:

LIMBERGER, V. M.; DE FRANCISCO, A.; BORGES, M. R.; ORO, T.; OGLIARI, P. J.; SCHEUER, P. M. NORONHA, C. M. Extração de β -glucanas de cevada e caracterização parcial do amido residual. **Ciência Rural**, v. 41, n.12, p. 2217-2223, 2011.

3 EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA E CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO AMIDO RESIDUAL

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os parâmetros da extração de β -glucanas de cevada e caracterizar parcialmente o amido residual da extração. Foi desenvolvida metodologia para extração de β -glucanas de cevada sem degradação do amido, avaliando as variáveis pH e temperatura de extração. O percentual de β -glucanas extraída variou de 44,21 a 53,38%, sendo influenciado pela temperatura, e o de amido extraído variou de 65,98 a 77,54%, sendo influenciado pelo pH. O amido residual da extração de β -glucanas de cevada apresentou poder de inchamento e solubilidade de $8,54 \pm 0,29\%$ e $6,04 \pm 0,073\%$, respectivamente. Pela análise em analisador rápido de viscosidade (ARV) desse amido foi observada viscosidade máxima de $164,67 \pm 1,30$ RVU e quebra de viscosidade de $45,79 \pm 2,06$ RVU. O espectro de infravermelho do amido residual é típico de amido de cevada nativo e semelhante ao de amidos isolados de milho, trigo e mandioca. De acordo com as micrografias eletrônicas de varredura da fração amido, foi possível visualizar uma mistura de grânulos grandes e lenticulares, com diâmetro médio de $19,15 \mu\text{m}$ e de grânulos pequenos com forma esférica, de $4,78 \mu\text{m}$. As características demonstradas pelo amido residual da extração de β -glucanas de cevada sugerem sua viabilidade para utilização na indústria de alimentos.

Palavras-chave: subproduto, tecnologia, amido, β -glucanas, cevada.

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the parameters of the extraction of barley's β -glucans and partially characterize the residual starch after extraction. A method was developed for the extraction of barley β -glucans without damaging the residual starch, assessing the variables pH and extraction temperature. The percentage of β -glucans in the extracted fraction varied from 44,21 to 53,38%, being influenced by temperature and the extracted starch varied from 65,98 to 77,54%, being influenced by pH. The residual starch from barley's β -glucan extraction had a swelling power and solubility of $8.54 \pm 0.29\%$ and $6.04 \pm 0.07\%$, respectively. The RVA's amylograph for this starch

showed a maximum viscosity of 164.67 ± 1.30 RVU and breakdown viscosity of 45.79 ± 2.06 RVU. The infrared spectrum of the residual starch was typical of native barley starch and similar to isolated starch from corn, wheat and cassava. According to the scanning electron micrographs fraction of starch, it was possible to see a mixture of large and lenticular granules with an average diameter of $19.15 \mu\text{m}$ and small spherically shaped ones, with $4.78 \mu\text{m}$. The characteristics showed by the residual starch from barley's β -glucan extraction, suggest a possible application in the food industry.

Key words: byproduct, technology, starch, β -glucans, barley.

3.1 INTRODUÇÃO

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) ocupa a quarta posição em produção de cereais no mundo (NEWMAN; NEWMAN, 2006). A produção brasileira de cevada é de aproximadamente 295 mil toneladas (IBGE, 2011). Este cereal tem sido destinado, em sua maioria, para alimentação animal e produção de malte cervejeiro (WÜRSCH; PI-SUNYER, 1997). Porém, a cevada tem valor nutricional especial, pois possui β -glucanas como constituinte da parede celular. Estudos têm demonstrado que as β -glucanas possuem efeitos fisiológicos benéficos, como imunomodulatórios, hipoglicemiantes e hipocolesterolêmicos, além de apresentarem importante papel tecnológico em alimentos processados, como espessantes e substitutos de gordura (WÜRSCH; PI-SUNYER, 1997; NEWMAN; NEWMAN, 2006). Processos de extração de β -glucanas têm sido aperfeiçoados para obter maior rendimento e pureza na extração, mas o amido é desprezado nas atuais tecnologias de extração (TEMELLI, 1997; VASANTHAN; TEMELLI, 2008), porém representa de 50-75% dos componentes da cevada (HOSENEY, 1991). Estruturalmente, o amido é constituído por moléculas lineares de amilose e ramificadas de amilopectina (WHISTLER; BEMILLER, 1999). O mercado de amidos vem crescendo nos últimos anos, tendo inúmeras possibilidades de utilização na tecnologia de alimentos, como agente de enchimento em embutidos cárneos, espessante, formadores de géis, adjuvante na estabilização de suspensões e de emulsões e agente na elaboração de filmes (SANDHU; SINGH; KAUR, 2004). Apesar da grande disponibilidade do amido de cevada, poucas pesquisas têm sido realizadas com este cereal, em comparação com outros, como milho e trigo. Porém, com a extração de β -glucanas da cevada, o amido residual

passa a possuir viabilidade econômica para ser utilizado. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros de extração de β -glucanas de cevada e caracterizar parcialmente o amido residual da extração.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada no estudo farinha de cevada foi integral, proveniente da cultivar BRS 195, fornecida pela SL Alimentos Ltda. Para a obtenção de amido residual, foi utilizada a metodologia de extração de β -glucanas de cevada visando à não degradação do amido, seguindo o método de Wood et al. (1978), adaptado por Temelli (1997), com modificações. A amostra de farinha de cevada (50 g) foi misturada a 500 mL de água destilada, com pH ajustado de acordo com um planejamento de superfície de resposta, usando CaCO_3 (20% p/v) para precipitação do amido e aquecimento em banho com agitação por 30 minutos sob temperaturas definidas pelo planejamento estatístico. A solução foi centrifugada a 4940 g /30 min a 4°C. O amido residual foi removido e caracterizado e o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,5 com HCl 2M, para precipitação das proteínas, seguido de centrifugação a 4940 g /30 min a 4°C. O resíduo protéico foi descartado e ao sobrenadante foi adicionado igual volume de etanol p.a. para precipitação das β -glucanas. Depois de 12 horas a 4°C, a solução foi centrifugada a 3780 g /10 min a 4°C. O precipitado de β -glucanas foi recuperado e ressuspenso em etanol p.a., filtrado, lavado com etanol p.a. e seco em estufa com circulação forçada de ar a 25°C durante 90 minutos. O extrato seco de β -glucanas permaneceu em dessecador por 24 horas e foi pulverizado com nitrogênio líquido. O amido residual da extração de β -glucanas com maior rendimento foi utilizado para caracterização.

Os teores de umidade, proteína (Kjeldahl N x 6,25), fibra alimentar solúvel e insolúvel, lipídeos e cinzas da farinha e do amido de cevada foram determinados pelos métodos da *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000). O amido total foi determinado pelo método AACC 76-13 e as β -glucanas pelo método AACC 32-23 (AACC, 2000), utilizando kit enzimático da Megazyme Internacional Ireland Ltd. Para o teor de amilose aparente, foi utilizado o método iodométrico (*iodine sorption: Blue Value*) (GILBERT; SPRAGG, 1964).

Para a caracterização do amido, foram determinados o poder de inchamento e a solubilidade segundo Schoch (1964); viscosidade pelo

Analizador Rápido de Viscosidade (Modelo ARV-3D), seguindo o protocolo padrão 1 (*Newport Scientific Methods*, 1998), utilizando amostra 10% (p/p). A espectroscopia na região do infravermelho de transmissão foi avaliada por equipamento da marca ABB Bomem, modelo FTLA 2000-100, pelo método FT-IR de sólido em KBr; e microscopia eletrônica de varredura em Microscópio Eletrônico JEOL JSM-6390LV, a uma voltagem de 10kV.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statística 7,0®. Para a extração, foi empregado um planejamento de superfície de resposta. Os fatores pH e temperatura, com os seus níveis de variação do processo de extração, são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Variáveis do processo de extração e níveis de variação.

Variáveis independentes	Níveis de variação				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
pH	6,6	7	8	9	9,4
Temperatura	35	38	45	52	55

$\alpha=1,414$

Os fatores mantidos constantes foram a velocidade e o tempo de centrifugação, o pH para precipitação de proteínas e a adição de etanol. Os fatores em estudo foram pH de extração do amido e temperatura do banho para extração. Um delineamento central composto rotacional foi adotado, totalizando 14 tratamentos, sendo quatro deles correspondentes ao fatorial 2^2 , 4 tratamentos axiais incluindo o nível mínimo e máximo de cada fator codificados como $-\alpha$ e $+\alpha$, e 6 repetições do tratamento central para estimar o erro puro, em que todos os fatores estavam em um nível médio codificado como zero (Tabela 1).

O modelo de regressão de segunda ordem é representado pela equação geral:

$$z = b_0 + b_1 * x + b_{11} * (x)^2 + b_2 * y + b_{22} * (y)^2 + b_{12} * x * y + 0.$$

Sendo: z = resultado estimado; x = pH; y = temperatura.

Para as demais análises, os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A farinha de cevada utilizada no estudo apresentou teores de $10,56 \pm 0,13\%$ de umidade, $10,69 \pm 0,10\%$ de proteína, $2,44 \pm 0,12\%$ de

extrato etéreo, $1,35 \pm 0,12\%$ de cinzas, $10,19 \pm 0,28\%$ de fibra alimentar insolúvel e $5,06 \pm 0,75\%$ de fibra alimentar solúvel. O teor de β -glucanas foi $4,74 \pm 0,06\%$ e o de amido foi de $58,07 \pm 2,49\%$, o amido contém $18,38 \pm 2,51\%$ de amilose. Resultados semelhantes foram descritos por Fujita e Figueroa (2003) para cultivares brasileiras de cevada. A composição da farinha de cevada indica que esta é uma boa fonte para o isolamento de β -glucanas e amido, devido ao elevado teor desses componentes e reduzido teor lipídico, o que facilita a extração.

As equações de regressão estimadas para a extração dos componentes da farinha de cevada são:

Equação 1: β -glucanas

$$z = -189,56 + 20,55 * x + (-1,01) * (x)^2 + 7,25 * y + (-0,07) * (y)^2 + (-0,11) * x * y$$

Equação 2: amido

$$z = -110,53 + 33,37 * x + (-1,96) * (x)^2 + 1,84 * y + (-0,01) * (y)^2 + (-0,03) * x * y$$

Sendo (para as Equações 1 e 2):

z = resultado estimado;

x = pH;

y = temperatura.

O percentual de β -glucanas extraído variou de 44,21 a 53,38%. O efeito do pH dentro da faixa estudada não foi significativo, todavia, a temperatura apresentou efeito linear e quadrático sobre a extração. O rendimento de β -glucanas extraídas foi maior para temperaturas entre 43 e 49 °C (Figura 1A). Wood et al. (1978) demonstraram um aumento na extração de β -glucanas de aveia nas temperaturas de 45 até 63°C, faixa de temperatura ótima para não contaminar o extrato com amido.

O percentual de amido extraído no experimento variou de 65,98 a 77,54 % e a extração de amido foi linearmente influenciada pelo pH, sendo o maior rendimento em torno de pH 8 (Figura 1B). A fração de amido residual apresentou $10,67 \pm 0,64\%$ de umidade, $4,26 \pm 0,13\%$ de proteína, $1,02 \pm 0,01\%$ de extrato etéreo, $1,00 \pm 0,04\%$ de fibra alimentar solúvel, $5,85 \pm 0,40\%$ de fibra alimentar insolúvel, $0,54 \pm 0,02\%$ de cinzas. Li e colaboradores (2001) obtiveram amido de cevada extraído com alta pureza (96,94%). Esses autores, entretanto, utilizaram técnica de extração específica para amido, o que não é o caso deste estudo, que aproveita resíduos da técnica utilizada para extração de β -glucanas. Pelos resultados das análises químicas empregadas, observa-se que o

amido possui proteínas aderidas, as quais não foram completamente retiradas na extração.

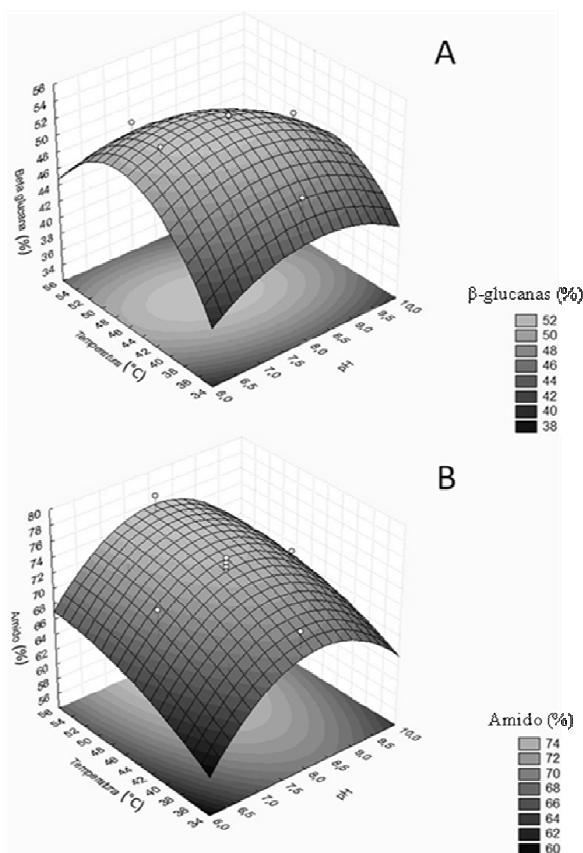


Figura 1 Efeito do pH e da temperatura no teor de β-glucanas (A) e amido (B) extraídos da cevada.

O poder de inchamento e a solubilidade do amido residual da extração de β-glucanas de cevada foram de $8,54 \pm 0,29\%$ e $6,04 \pm 0,07\%$, respectivamente. Esses valores são esperados para o teor de 18% de amilose aparente encontrado na amostra e estão de acordo com a literatura, que indica que, normalmente, quanto menor o teor da amilose, maior o poder de inchamento do amido (MACGREGOR; FINCHER, 1993; CZUCHAJOWSKA et al., 1998; SONG; JANE, 2000).

O amilograma de ARV para o amido de cevada demonstra suas propriedades de pasta características (Figura 2). A viscosidade máxima do amido de cevada foi $164,67 \pm 1,30$ RVU, resultado concordante com o da bibliografia para amido de cevada na mesma concentração e programa de ARV (SOARES, 2003). Esse valor é também comparável ao pico de viscosidade do amido de milho na mesma concentração (FRANCO et al., 2010).

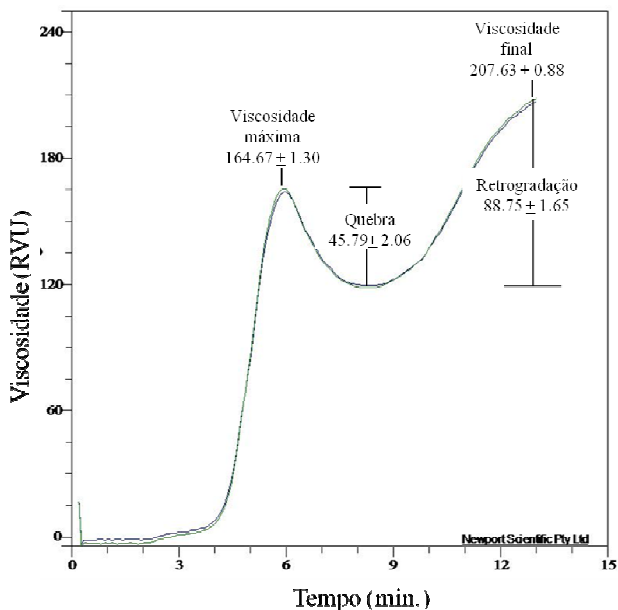


Figura 2 Viscograma do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

Segundo Singh et al. (2003), a altura do pico a uma dada concentração reflete a habilidade dos grânulos de inchar livremente antes da quebra física. A quebra de viscosidade apresentada no estudo foi de $45,79 \pm 2,06$ RVU, valores semelhantes foram constatados por Soares (2003), utilizando a mesma metodologia para amidos isolados de cultivares de cevada. O amido residual do presente trabalho, ao contrário de amidos cerosos (MCPHERSON; JANE, 1999; JANE et al., 1999; SONG; JANE, 2000), apresentou maior tendência à retrogradação sob a mesma base de comparação. É possível sugerir que o teor de amilose, juntamente com o tamanho das cadeias laterais de amilopectina, sejam

os responsáveis por tais diferenças (FRANCO et al., 2002). Além da influência da amilose e da amilopectina nas propriedades de pasta do amido, o método de isolamento dele também parece influenciar nas propriedades de pasta (GRANT, 1998; JANE et al., 1999).

O espectro de infravermelho do amido residual é mostrado na Figura 3, sendo típico de amido, semelhante a amidos isolados de milho, trigo e mandioca (WILSON et al., 1987; WILSON; BELTON, 1988). Essa semelhança demonstra que a amostra extraída pode ser caracterizada como amido.

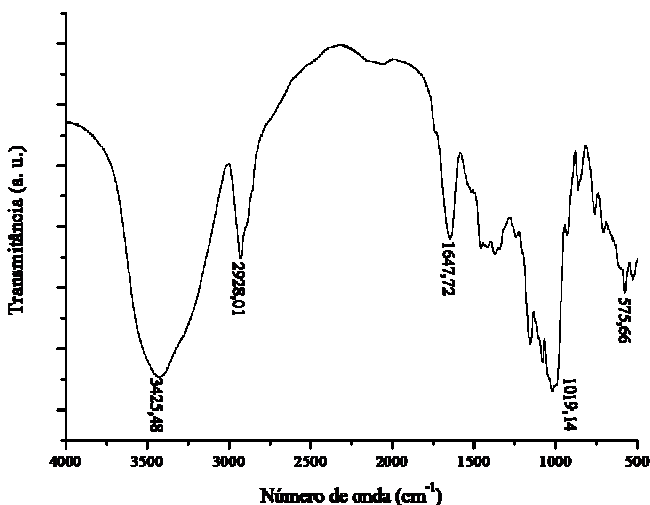


Figura 3 Espectro no infravermelho do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

As micrografias eletrônicas de varredura (Figura 4) mostram uma mistura de grânulos de amido grandes e lenticulares, com diâmetro médio 19,15 μm , e pequenos com forma esférica, com 4,78 μm de diâmetro médio. Esses resultados estão de acordo com aqueles relatados para amido de cevada por Macgregor e Fincher (1993) e Li et al. (2001). O material residual da extração de β -glucanas, além da elevada concentração de grânulos de amido, não apresentou evidências de danos mecânicos.

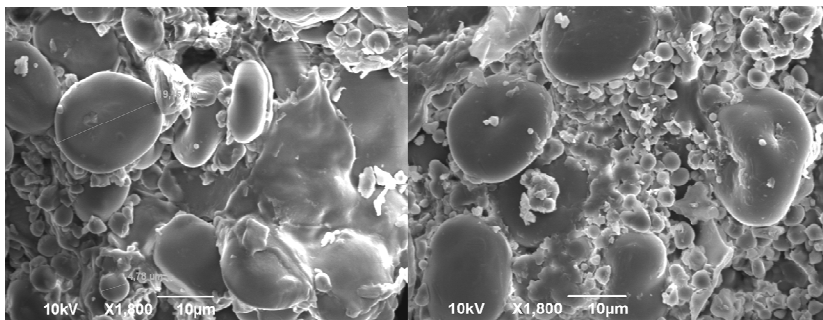


Figura 4 Microscopia eletrônica de varredura do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

3.4 CONCLUSÕES

Os parâmetros estudados para a extração de β -glucanas de cevada demonstram que esta pode ser obtida com mais de 50% de pureza, a 45°C e pH 8,0. A caracterização do amido residual da extração de β -glucanas de cevada indica que este material possui mais de 75% de pureza em amido. Adicionalmente, as características de tamanho e de viscosidade demonstradas por este amido residual são semelhantes às características de amidos já utilizados na indústria de alimentos, como o amido de milho, o que sugere a utilização deste resíduo.

REFERÊNCIAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of AACC**. 9.ed. St Paul, 2000.

CZUCHAJOWSKA, Z.; KLAMCZYNSKI, A.; PASZCZYNSKA, B.; BAIK, B. K. Structure and functionality of barley starches. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.747-754, 1998.

FRANCO, C. M. L; WONG, K. S.; YOO, S. H.; JANE, J. L. Structural and functional characteristics of selected soft wheat starches. **Cereal Chemistry**, v.79, n.2, p.243-248, 2002.

FRANCO, C. M. L; OGAWA, C.; RABACHINI, T.; ROCHA, T. S.; CEREDA, M. P.; JANE, J. L. Effect of lactic acid and UV

irradiation on the Cassava and Corn Starches. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53 n.2, p.443-454, 2010.

FUJITA, A.H.; FIGUEROA, M.O.R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.23, p.116-120, 2003.

GILBERT, G.A.; SPRAGG, S.P. Iodine sorption: blue value. In: WHISTLER, R.L. et al. **Methods in carbohydrate chemistry**. London: Academic, 1964. p.168-169.

GRANT, L.A. Effects of starch isolation, drying, and grinding techniques on its gelatinization and retrogradation properties. **Cereal Chemistry**, v.75, n.5, p.590-594, 1998.

HOSENEY, R.C. **Principios de Ciencia y Tecnologia de los Cereales**. Zaragoza: Acribia, 1991. 321 p.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. Acesso em: 08 abr. 2011.

JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L. F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n.5, p.629-637, 1999.

LI, J.H.; VASANTHAN, T; ROSSNAGEL, B; HOOVER, R. Starch from hull-less barley: I. Granule morphology, composition and amylopectin structure. **Food Chemistry**, v. 74, p. 395–405, 2001.

MACGREGOR, A.W.; FINCHER, G.B. Carbohydrates of the barley grain. In: _____; BHATTY, R.S. **Barley - Chemistry and technology**. St. Paul, Minnesota: AACC, 1993. p.73-128.

MCPHERSON, A.E.; JANE, J. Comparison of waxy potato with other root and tuber starches. **Carbohydrate Polymers**, v.40, p.57-70, 1999.

NEWMAN, C.W.; NEWMAN, R.K. A brief history of barley foods. **Cereal Foods World**, v.51, p.4-8, 2006.

NEWPORT SCIENTIFIC METHOD ST-00. November 1998. Decatur, IL: Developed by A. E. Staley Manufacturing, 62525, 1998. (Revision 3).

SANDHU, K. S.; SINGH, H.; KAUR, M. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 119-127, 2004.

SCHOCH, J.T. Swelling power and solubility of starch granules. In: WHISTLER, R.J.S.R.J.; WOLFROM, M.L. **Methods in carbohydrates chemistry**. New York, USA: Academic, 1964. p.106-108.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v.81, p.219-231, 2003.

SOARES, R.M.D. **Caracterização parcial de amido em cultivares brasileiros de cevada (*Hordeum vulgare* L.)**. 2003. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, SC.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylase varieties. **Carbohydrate Polymers**, v.41, p.365-377, 2000.

TEMELLI, F. Extraction and functional properties of Barley β -glucan as affected by temperature and pH. **Journal of Food Science**, v.62, p.1194-1201, 1997.

VASANTHAN, T.; TEMELLI, F. Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. **Food Research International**, v.41, p.876-881, 2008.

WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. 2.ed. Minnesota: Eagan, 1999. 241p.

WILSON, R.H. et al. A Fourier-transform infrared study of the gelation and retrogradation of waxy-maize starch. **Carbohydrate Research**, v.166, p.162-165, 1987.

WILSON, R.H.; BELTON, P.S. A Fourier-transform infrared study of wheat starch gels. **Carbohydrate Research**, v.180, p.339-344. 1988.

WOOD, P. J.; SIDDIQUI, I. R.; PATON, D. Extraction of high-viscosity gums from oats. **Cereal Chemistry**, v.55, p. 1038-1049, 1978.

WÜRSCH, P.; PISUNYER, F.X. The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes - A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. **Diabetes Care**, v.20, n.11, p.1774-1780, 1997.

CAPÍTULO 4

AMIDO RESIDUAL DA EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA NA PRODUÇÃO DE XAROPE DE MALTOSE

4 AMIDO RESIDUAL DA EXTRAÇÃO DE β -GLUCANAS DE CEVADA NA PRODUÇÃO DE XAROPE DE MALTOSE

RESUMO

Pesquisas têm comprovado múltiplos benefícios das β -glucanas para a saúde humana. A cevada é uma boa fonte deste componente e sua extração tem sido descrita. No entanto, não tem sido mencionada a utilização do amido residual desse processo, embora represente mais de 50% da composição da matéria-prima. O objetivo desse estudo foi avaliar a produção enzimática de xarope de maltose a partir do amido residual da extração de β -glucanas de cevada. Foi utilizada a metodologia de superfície de resposta para a avaliação da hidrólise, adotando modelo central composto rotacional. A farinha de cevada é uma boa fonte para a obtenção de β -D-glucanas e amido. O hidrolisado de amido apresentou teor de açúcares redutores em maltose entre 36,85 e 65,61%, a dextrose equivalente (DE) variou de 40,94 a 72,9, o teor de sólidos solúveis totais apresentou variação entre 8 e 14,5°Brix e a eficiência de hidrólise foi de 77,61 a 84,02%. Todos os parâmetros avaliados tiveram influência da concentração de substrato, porém o tempo de hidrólise não influenciou significativamente, levando o modelo a ser ajustado para regressão linear simples. O xarope de alto teor de maltose obtido comercialmente através do amido de milho é composto, em média, por 50% de maltose. Neste contexto, é possível sugerir que um xarope com características do comercializado atualmente pode ser obtido com a hidrólise de amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

Palavras-chave: cevada, β -glucanas, amido, hidrólise, amilase, maltose.

ABSTRACT

Several research studies have proved the multiple benefits of β -glucans for human health. Barley is a good source of this component and its extraction has been described. However, the utilization of the residual starch from this process has not been mentioned, even though, the starch represents more than 50% of the raw material. The objective of this study was to evaluate the enzymatic production of maltose syrup from the starch byproduct of barley β -glucan extraction. Surface response was used to evaluate the hydrolysis, adopting a central

compound model. The barley flour from cultivar BRS 195 proved to be a good source for β -glucans and starch. The hydrolyzed starch had 36,85 e 65,61% reducing sugars in maltose, dextrose equivalent (DE) from 40,94 to 72,9, soluble solids between 8 a 14,5°Brix and a hydrolysis efficiency of 77,61 to 84,02%. All the evaluated parameters had influence on the substrate concentration, however, the hydrolysis time was not significant leading the Project to be adjusted to a simple regression. The commercially available high-maltose syrup from corn starch has an average of 50% reducing sugars in maltose. So in this content, it is possible to suggest that a syrup with the characteristics of the currently commercialized can be obtain from the hydrolysis of the residual starch resulting from the extraction of barley β -glucans.

Key-words: barley, β -glucans, starch, hydrolysis, amylase, maltose.

4.1 INTRODUÇÃO

Pesquisas sobre β -glucanas de cevada têm demonstrado seus múltiplos benefícios para a saúde humana (BOURDON et al., 1999), como a sua tendência para reduzir o início de câncer colorretal (DONGOWSKI et al., 2002), o aumento do bolo fecal, a redução da constipação (ODES et al., 1993), redução do índice glicêmico (CAVALLERO et al., 2002) e nivelamento dos níveis de glicose e insulina pós-prandial (LI et al., 2003). Considerando seus benefícios para a saúde, uma gama de alimentos funcionais contendo β -glucanas estão sendo comercialmente introduzidos no mercado internacional (BURKUS; TEMELLI, 2000). Assim, a demanda industrial para este composto natural de cereais está crescendo rapidamente e tem grande potencial para aplicação em alimentos.

A cevada é fonte de β -glucanas (5-11%) (BRENNAN; CLEARLY, 2005) e a concentração deste componente, a fim de incorporá-lo em produtos alimentícios de valor agregado, pode ser realizada por extração (BHATTY, 1995; BURKUS; TEMELLI, 1998).

Outro abundante polissacarídeo da cevada, o amido, também tem sido estudado, mas não tão extensivamente quanto os amidos de milho, batata e trigo (YOU; IZYDORCZYK, 2002). O amido representa mais de 50 % da composição da cevada (LI et al., 2001a). Porém, os estudos sobre extração de β -glucanas de cevada não sugerem a utilização do amido residual.

Apesar do fato de que existem muitas fontes de amido disponíveis, apenas algumas delas têm importância industrial, principalmente milho, trigo, batata e mandioca. Mais de 80 % do mercado mundial de amido tem origem do milho (JOBLIN, 2004).

O conteúdo de amilose e a extensão e localização de ramificações de amilopectina são os principais determinantes das propriedades funcionais do amido, tais como absorção de água, gelatinização e propriedades de pasta, incluindo a gelatinização e a retrogradação e susceptibilidade ao ataque enzimático, que influenciam o comportamento do amido durante o processamento e digestão humana (COPELAND et al., 2009). O amido nativo é altamente variável entre e dentro de espécies de plantas. Esta variabilidade é evidente na morfologia de grânulos (tamanho e forma), grau de cristalinidade e organização interna cristalina, conteúdo de amilose e amilopectina e arquitetura de amilopectina (LI et al., 2001a).

O amido extraído de cereais é utilizado extensivamente em indústrias alimentícias e não alimentícias, porém, o uso de amido de cevada ainda é restrito (SOARES, 2003).

O amido de cevada consiste em uma mistura de grânulos grandes, lenticulares – tipo A e menores, irregulares – tipo B (HOSENEY, 1991; MACGREGOR; FINCHER, 1993). Embora os grânulos maiores representem somente uma pequena porção do total do número de grânulos, estes constituem a maior fração de peso do total de amido presente na cevada (MACGREGOR; FINCHER, 1993).

Os amidos podem ser fisicamente e quimicamente modificados para atender a demanda da indústria. (FANNON; BEMILLER, 1992; ATKIN et al., 1998; LI et al., 2001b).

Transformações hidrolíticas do amido são feitas por vários métodos, tais como químicos, térmicos e enzimáticos. A tradicional hidrólise ácida de amido está sendo substituída por processos enzimáticos. Isto é devido ao fato de que os processos ácidos levam a subprodutos indesejáveis. A taxa de hidrólise dos grânulos de amido depende fortemente da sua origem botânica (SRICHUWONG et al., 2005). O fato de algumas enzimas, com capacidade especial de transformar amidos em polímeros menores, compostos por unidades de glicose inspirou várias pesquisas nos últimos anos (KANDRA, 2003; LI et al., 2004).

O número de diferentes enzimas para hidrólise de amido tem aumentado constantemente desde a sua introdução comercial em 1970.

Estas enzimas diferem em especificidade (NIGAM; SINGH, 1995). Além disso, os desenvolvimentos recentes nas técnicas de engenharia genética aumentam ainda mais a variedade de enzimas e diminuem o seu custo, permitindo aos produtores de hidrolisado de amido o fornecimento de produtos de acordo com as exigências dos clientes (MARCHAL et al., 1999).

A hidrólise do amido em produtos com baixo peso molecular, catalisada por uma amilase é um dos mais importantes processos enzimáticos comerciais (KONSULA; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, 2004). As amilases (EC3.2.1.1) catalisam a hidrólise de ligações internas α -1,4-glicosídicas do amido de maneira aleatória (NIGAM; SINGH, 1995; NIELSEN; BORCHERT, 2000). Os principais produtos finais da ação da α -amilase sobre o amido são a glicose, maltose, maltotriose, maltotetraose, maltopentaose e maltohexaose (WOO; McCORD, 1994; NIGAM; SINGH, 1995).

Xaropes de maltose são hidrolisados de amido purificados e concentrados contendo 40 a 90% (base seca) de maltose. Eles são usados na indústria de alimentos, como por exemplo, padaria, confeitaria e cervejaria, pois têm interessantes propriedades funcionais, dentre elas, baixa higroscopicidade, baixa viscosidade, resistência à cristalização, baixa doçura, reduzida capacidade de escurecimento e boa estabilidade térmica (GAOUAR et al., 1998).

A hidrólise do amido pode ser avaliada através da determinação de Dextrose Equivalente (DE), que é uma medida do poder redutor dos polissacarídeos/oligossacarídeos derivados de amido comparado com D-glicose em base seca (WANG; WANG, 2000). Quanto maior o valor de DE, maior o efeito da hidrólise ou despolimerização do amido (CEREDA; VILPOUX, 2003).

A maioria dos processos de produção de xarope de maltose empregam o amido a partir de matérias-primas comerciais, sendo que muitos resíduos amiláceos, por exemplo o da extração de β -glucanas de cevada, podem ser importante alternativa para esta produção. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a produção enzimática de xarope de maltose a partir do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Matéria-prima

Foi utilizada no estudo farinha de cevada integral, proveniente da cultivar BRS 195, fornecida pela SL Alimentos Ltda.

Para a obtenção do amido foi desenvolvida metodologia de extração de β -glucanas de cevada sem que o amido fosse degradado, seguindo o método de Wood et al. (1978), adaptado por Temelli (1997), com modificações. O amido utilizado para a hidrólise foi o residual da extração de β -glucanas. A amostra de farinha de cevada (50 g) foi misturada a 500 mL de água destilada, com pH ajustado para 8,0 usando carbonato de cálcio (20 % p/v), para precipitação do amido, e aquecida em banho com agitação por 30 minutos a 45 °C. A solução foi centrifugada a 4940 g /30 min a 4°C. O resíduo foi removido e o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,5 com HCl 2 mol.L⁻¹, para precipitação das proteínas, seguido de centrifugação a 4940 g /30 min a 4 °C. O resíduo proteico foi descartado e ao sobrenadante foi adicionado igual volume de etanol p.a. para precipitação das β -glucanas. Após 12 horas a 4 °C, a solução foi centrifugada a 3780 g /10 min a 4 °C. O precipitado foi recuperado e ressuspenso em etanol p.a., filtrado, lavado com etanol p.a. e seco em estufa (modelo 400/D 200 °C, marca Nova Ética®) a 25 °C com circulação forçada de ar durante 1,5 horas. O extrato seco de β -glucanas permaneceu em dessecador por 24 horas e foi pulverizado com auxílio de nitrogênio líquido.

O amido utilizado no estudo foi o resíduo da primeira centrifugação, que foi seco em estufa a 25°C com circulação forçada de ar por 12 horas e pulverizado.

4.2.2 Análises Químicas

Umidade, proteína (Kjeldahl N x 6,25), fibra alimentar solúvel e insolúvel, lipídeos e cinzas foram determinados pelos métodos da *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 2000). Amido total foi determinado pelo método AACC 76-13 e β -glucanas, pelo método AACC 32-23 (AACC, 2000), utilizando kit enzimático da Megazyme Internacional Ireland Ltd. Para o teor de amilose aparente, foi utilizado o método *iodine sorption: Blue Value* (GILBERT; SPRAGG, 1964).

4.2.3 Hidrólise enzimática do amido

A hidrólise enzimática do amido residual da extração de β -glucanas de cevada foi desenvolvida de acordo com Moore et al. (2005), com modificações. Para a hidrólise do amido foi utilizada α -amilase TERMAMYL 120 L, de *Bacillus liqueniformis* com atividade de 120 KNU/g. 1KNU (Kilo Novo Unidades de α -amilase) é definido como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar 5.26 g de amido por hora nas condições padronizadas (MOORE et al., 2005).

Foi desenvolvido um desenho experimental de superfície de resposta para avaliar os parâmetros concentração de substrato e tempo de hidrólise. O amido foi suspenso em água destilada de acordo com o desenho experimental. A suspensão foi acrescida de 0,2 g de cloreto de cálcio (CaCl_2) e o pH foi ajustado em 6,5 com ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol.L⁻¹. Após a adição de 80 μL de extrato enzimático comercial contendo 96 μg de enzima, considerando a densidade da TERMAMYL 120L de 1,26g/mL (NOVOZYMES, 2011), as suspensões foram colocadas em banho Maria com agitação a 100 °C. Após atingir a temperatura de 90 °C as amostras foram retiradas do banho de acordo com o desenho experimental, resfriadas em banho de gelo e o pH foi imediatamente ajustado para 4,0 para a inativação enzimática.

Após a hidrólise, as amostras foram centrifugadas a 4000 g por 20 minutos a 4 °C. O resíduo foi seco em estufa a 105°C por 24 horas para cálculo da quantidade de sólidos iniciais que foram solubilizados e o sobrenadante foi imediatamente utilizado para as demais análises.

4.2.4 Determinação de dextrose equivalente

De acordo com o desenho experimental, foram determinados açúcares redutores (MILLER, 1959). O valor de Dextrose Equivalente (DE) foi calculado segundo Ponth e Low (1995).

A amostra analisada foi diluída (2 mL em balão de 500 mL). A determinação foi realizada adicionando-se em tubo de ensaio 1 mL do reagente de 3,5 DNS e 2 mL da amostra a ser analisada. Os tubos foram colocados no banho Maria em ebulição por 5 minutos e resfriado em banho de gelo. A leitura foi realizada contra o branco, sem amostra, em espectrofotômetro a 490 nm. Os valores foram obtidos pela equação resultante da curva de calibração construída com a maltose nas concentrações 0, 25, 125, 250 375 e 500 μL .

4.2.5 Sólidos solúveis totais

A determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) do hidrolisado foi realizada em refratômetro de Abbe, que permite a determinação de uma faixa ampla de índices refrativos. Somente algumas gotas de amostra são necessárias para determinar a concentração de sólidos solúveis, tendo precisão de $\pm 0,002$ (MOORE et al., 2005).

4.2.4 Eficiência da hidrólise

A eficiência da hidrólise foi determinada segundo Eduardo (2002). O resíduo da hidrólise centrifugado foi seco em estufa a 105°C por 24 horas para cálculo da quantidade de sólidos iniciais que foram solubilizados. A eficiência da hidrólise foi calculada pela Equação 1:

$$\% \text{ Eficiência de hidrólise} = \frac{\text{sólidos iniciais (g)} - \text{sólidos finais (g)}}{\text{sólidos iniciais (g)}} \times 100$$

4.2.6 Desenho experimental e análise estatística

Para a avaliação de hidrólise foi empregado um planejamento experimental da metodologia de superfície de resposta (MSR) denominado delineamento central composto rotacional (DCCR), ajustado a um modelo de regressão de segunda ordem. Foram utilizados dois fatores, quais sejam: concentração do substrato e tempo de hidrólise. Os níveis de variação dos fatores estão demonstrados na Tabela 1.

Um delineamento central composto rotacional (DCCR) foi adotado, totalizando 14 tratamentos: 4 tratamentos correspondentes a um fatorial completo 2^2 , onde os dois fatores foram: C= concentração do substrato (%) e t=tempo de hidrólise (min.), cada um com dois níveis codificados como -1 e +1; 4 tratamentos incluindo o nível mínimo e máximo de cada um dos fatores codificados como $-\alpha$ e $+\alpha$, onde $\alpha = (2^2)^{1/4} = 1,414$; 6 repetições do tratamento central para estimar o erro puro, em que todos os fatores estavam em um nível médio codificado como zero (Tabela 1).

O modelo de regressão de segunda ordem estimado é representado pela Equação 2.

$$z = b_0 + b_1 * x + b_{11} * (x)^2 + b_2 * y + b_{22} * (y)^2 + b_{12} * x * y$$

Onde:

z=resultado estimado

x=concentração do substrato

y=tempo de hidrólise

Tabela 1 Níveis de variação e variáveis do processo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

Variáveis independentes	Níveis de variação				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
C (g/100g)	13	15	20	25	27
T (min)	26	30	40	50	54

C=concentração de substrato. t=tempo de hidrólise. $\alpha=1,414$

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Caracterização da amostra

A composição da farinha de cevada e da fração amido extraída encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 Composição da farinha de cevada e da fração amido extraída

Componente	%
Amido	58,07 \pm 2,49
Amilose aparente	18,38 \pm 2,51
Proteínas	10,69 \pm 0,10
Lipídeos	2,44 \pm 0,12
Cinzas	1,35 \pm 0,12
Fibra insolúvel	10,19 \pm 0,28
Fibra solúvel	5,06 \pm 0,75
β -glucanas	4,74 \pm 0,06

Os resultados são, em base seca, média \pm desvio padrão.

Resultados semelhantes foram descritos por Fujita e Figueroa (2003) para cultivares brasileiros de cevada. Izydorczyk e colaboradores

(2000) estudaram 29 amostras de variedades registradas e genótipos experimentais de cevada do Canadá, e encontraram em seu estudo valores semelhantes aos encontrados para a matéria-prima.

Segundo Blazek e Copeland (2008), o amido pode ser caracterizado de acordo com o teor de amilose, sendo de até 2% para o amido ceroso, de até 34% para o amido normal e de até 43% para amido com alto teor de amilose. Assim, de acordo com o teor de amilose aparente (18,38 %), a farinha de cevada utilizada no estudo tem amido normal. Bhatti and Rosnagel (1997) consideram em seu estudo que o conteúdo de amilose do amido da cevada varia de 20 a 30% em amido normal, ou seja, variedades não melhoradas ou modificadas.

A composição da farinha de cevada indica que esta é uma boa fonte para o isolamento de β -glucanas e amido, devido ao elevado teor destes componentes e reduzido teor lipídico, o que facilita a extração.

De acordo com os resultados (Tabela 2), o percentual de amido residual da extração de β -glucanas de cevada foi de 77,54 %, a fração de amido residual ainda apresentou 10,67 % de umidade, 4,26 % de proteína, 1,02 % de extrato etéreo, 1,00 % de fibra alimentar solúvel, 5,85 % de fibra alimentar insolúvel, 0,54 % de cinzas (resíduo mineral fixo).

Os estudos de extração de β -glucanas de cevada não incluem o teor de amido residual. Li e colaboradores (2001a) obtiveram amido de cevada extraído com alta pureza (96,94%), além de baixos teores de proteína e cinzas. Porém, estes autores utilizaram técnica de extração específica para amido, o que não é o caso desse estudo, que aproveitou resíduos da técnica utilizada para extração de β -glucanas.

You e Izydorczyk (2002) também encontraram alta pureza para o amido isolado de cevada com metodologia de extração específica para amido, utilizando enzimas para degradar as paredes celulares e as β -glucanas do grão.

Considerando que nenhuma metodologia de purificação adicional foi utilizada no amido residual de extração de β -glucanas de cevada, o teor deste polissacarídeo na amostra pode ser considerado elevado.

4.3.2 Hidrólise enzimática do amido

A Tabela 3 ilustra o delineamento central composto rotacional e os resultados de açúcares redutores em maltose, de dextrose equivalente (DE), de sólidos solúveis (SS) totais e de eficiência da hidrólise.

Tabela 3 Delineamento central composto rotacional (DCCR) com dois fatores e os resultados dos ensaios para açúcares redutores em maltose, DE, SS totais e eficiência da hidrólise.

Variáveis codificadas		Variáveis reais		AR*	DE	SST	E (%)
C codificado	T codificado	C (%)	t (min)	(%)		(°Brix)	
0	0	20	40	52,00	57,78	12,5	81,94
0	-1,41	20	26	51,59	57,32	12,5	80,50
0	1,41	20	54	51,27	56,97	13,2	81,22
1	1	25	50	41,73	46,36	14,1	80,98
-1	-1	15	30	62,12	69,02	9,4	82,67
-1,41	0	13	40	65,61	72,90	8	84,02
1	-1	25	30	39,08	43,42	14	79,73
0	0	20	40	51,62	57,36	12,6	80,67
1,41	0	27	40	36,85	40,94	14,5	77,61
0	0	20	40	46,48	51,65	12	81,94
-1	1	15	50	62,16	69,07	9	83,11
0	0	20	40	51,07	56,74	12	82,17
0	0	20	40	50,08	55,64	12,1	81,00
0	0	20	40	51,36	57,07	12,2	81,28

C= concentração do substrato. t= tempo de hidrólise. AR=açúcares redutores (*determinados em maltose). SST=sólidos solúveis totais. DE=dextrose equivalente. E=eficiência da hidrólise.

Os coeficientes de regressão para a equação geral são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 Coeficientes de regressão para variáveis reais das equações para modelo de segunda ordem.

Parâmetro	Variável Resposta			
	Açúcares redutores**	DE	Sólidos solúveis totais	Eficiência
b ₀	115,974*	128,8595*	2,466984*	86,20748*
b ₁	-3,252*	-3,6131*	1,189282*	-0,28505*
b ₂	0,015	0,0171	-0,020717	-0,00573
b ₁₁	-0,622	-0,6914	-0,361770	0,04997
b ₂₂	0,005	0,0054	0,004004	-0,00120
b ₁₂	0,013	0,0145	0,002500	0,00400
R ²	0,97	0,97	0,95	0,83

b₁=coeficiente de concentração; b₂=coeficiente de tempo; (*=P<0,01).

**determinados em maltose.

De acordo com os resultados, apenas o efeito linear da concentração do substrato apresentou significância para as respostas. Portanto, foram retirados os efeitos não significativos e os modelos foram ajustados para regressão linear simples (Tabela 5)

O modelo de regressão linear simples é representado pela Equação 3.

$$z = b_0 + b_1 \cdot x$$

Onde:

z=resultado estimado

x=concentração do substrato

Tabela 5 Coeficientes de regressão para variáveis reais das equações ajustadas para modelo de regressão linear simples.

Parâmetro	Variável Resposta			
	Açúcares redutores**	DE	Sólidos solúveis totais	Eficiência
b ₀	93,22157*	103,5795*	2,512193*	88,43276*
b ₁	-2,11461*	-2,3496*	0,474747*	-0,35435*
R ²	0,97	0,97	0,91	0,79

b₁=coeficiente de concentração; (*=P<0,01).

**determinados em maltose.

A concentração de açúcares redutores em maltose no hidrolisado variou de 36,85 a 65,61 % (Tabela 3). O efeito do tempo de hidrólise não foi significativo para este experimento, todavia, a concentração de substrato apresentou efeito linear sobre a hidrólise. O maior teor de açúcares redutores em maltose foi para a menor concentração de substrato estudado (13%) (Figura 1).

A concentração na qual a reação de hidrólise ocorre influencia a composição de sacarídeos. Em estudo de Marchal e colaboradores (1999) sobre a hidrólise de amido de batata com α -amilase de *Bacillus amyloliquefaciens*, também foi observado que a concentração do substrato influencia a composição de sacarídeos obtidos durante a hidrólise.

Adicionalmente, impurezas comprometem o acesso enzimático. Assim, a área de superfície acessível à enzima e a eficiência de adsorção de enzima sobre esta superfície são parâmetros cinéticos críticos (BERTOFT; MANELIUS, 1992).

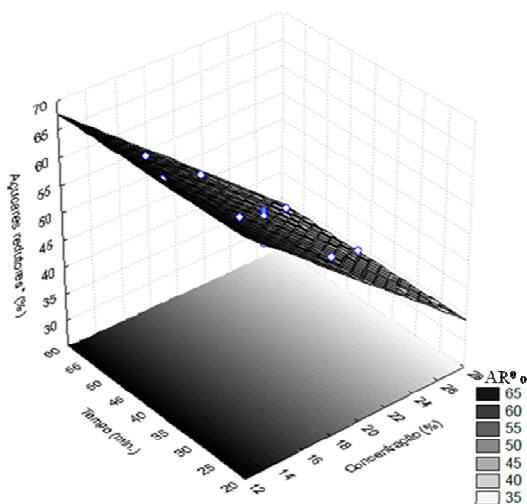


Figura 1 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada na produção de xarope de maltose. *Determinados em maltose.

Devido ao teor de amilose do amido de cevada, este possui temperatura de gelatinização baixa, facilitando o acesso enzimático logo no início da reação. Diversas publicações sugerem que a suscetibilidade

enzimática é maior em grânulos com conteúdo menor de amilose. Este fato demonstra que a hidrólise ocorre nas regiões ramificadas do grânulo (amilopectina) (FRANCO et al., 1988).

Enquanto que a amilose, essencialmente linear possui menos extremidades disponíveis à α -amilase, espera-se que a amilopectina, apesar de ramificada, apresente mais pontos α -1-4 de ação para as enzimas (MOORE, 2001). A hidrólise mostra uma taxa inicial relativamente rápida, seguida de redução progressiva (PLANCHOT et al., 1995; LI et al., 2004).

Seguindo a mesma tendência, o valor de dextrose equivalente (DE) obtido variou de 40,94 a 72,9 (Tabela 3) e foi influenciado linearmente pela concentração de substrato (Figura 2).

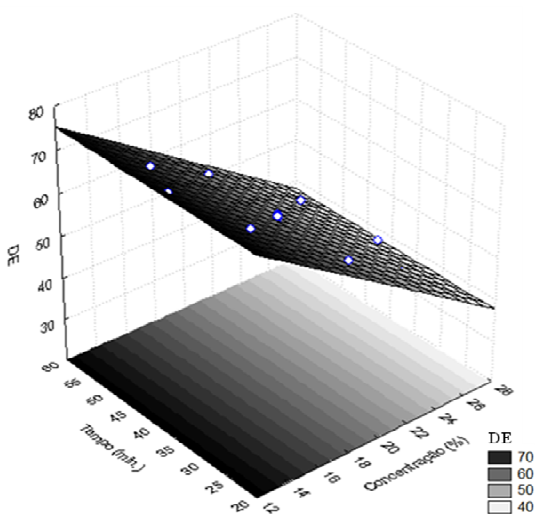


Figura 2 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada na DE (dextrose equivalente).

A dextrose equivalente é expressa como o percentual de ligações glicosídicas hidrolisadas, demonstrando o poder redutor. A dextrose equivalente do amido é zero (DE=0) e da glicose é 100 (DE=100) (DOKIC et al., 1998). Portanto, os valores para DE encontrados no estudo são esperados, pois resultam da hidrólise de amido em compostos de menor grau de polimerização (GP), como glicose (GP1), maltose (GP2), maltotriose (GP3) e dextrinas.

Hidrolisados com valores diferentes de DE têm diferentes propriedades físico-químicas como solubilidade, temperatura de congelamento, viscosidade, etc. (WANG; WANG, 2000). No entanto, maltodextrinas com os mesmos valores de DE também podem ter propriedades diferentes, dependendo do procedimento de hidrólise, fonte de amido e da relação amilose amilopectina (DOKIC-BAUCAL et al., 2004).

Os sólidos solúveis totais apresentaram variação de 8 a 14,5 °Brix (Tabela 3). Efeito linear da concentração foi observado, o que é esperado, pois os sólidos solúveis finais são diretamente proporcionais aos sólidos utilizados inicialmente (amido) (Figura 3).

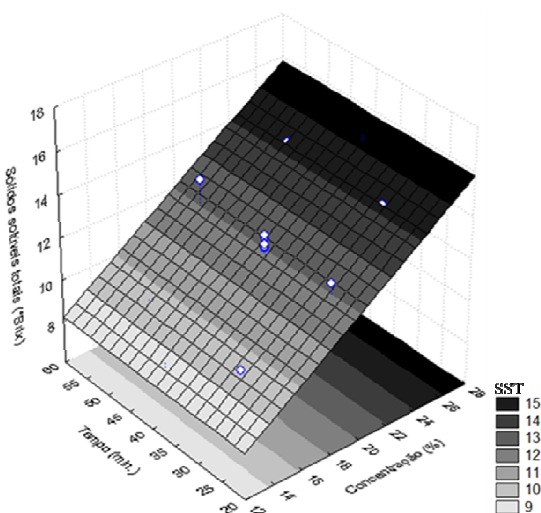


Figura 3 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada nos sólidos solúveis totais (SST).

A conversão de amido em carboidratos de menor massa molecular está acompanhada pelo aumento da solubilidade. A determinação dos sólidos solúveis também pode expressar o rendimento da hidrólise, revelando quanto do amido inicial empregado foi solubilizado. Assim, para o presente estudo, o percentual de sólidos solúveis indica que ocorreu a solubilização do amido através da hidrólise enzimática.

A eficiência da hidrólise variou de 77,61 a 84,02 % (Tabela 3), sendo também linearmente influenciada pela concentração de substrato (Figura 4).

Li e colaboradores (2004) obtiveram eficiência, após 72 horas de hidrólise, de amido ceroso, normal e de alta amilose, de 97, 94 e 91%, respectivamente, pela α -amilase pancreática. Durante o mesmo intervalo de tempo, os graus de hidrólise pela α -amilase bacteriana e amiloglicosidase atingiram 78 e 67% em amido ceroso, 29 e 30% em amido normal, e 37 e 33% em amido de alta amilose, respectivamente.

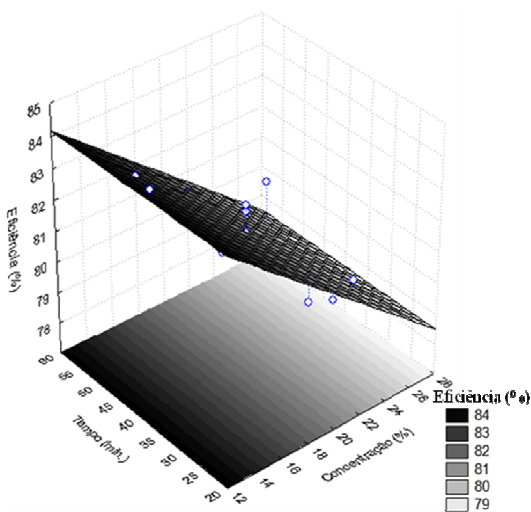


Figura 4 Efeito da concentração de substrato e do tempo de hidrólise na eficiência da hidrólise do amido residual da extração de β -glucanas de cevada.

Uma grande variação ocorre entre adsorção enzimática e taxa de hidrólise entre os amidos de diversas origens e tipos diferentes (BERTOFT; MANELIUS, 1992; KIMURA; ROBYT, 1995). A taxa de

hidrólise pode ser influenciada tanto pelas características de superfície quanto pela estrutura interna dos grânulos de amido.

Knutson e colaboradores (1982) estudaram a hidrólise com α -amilase pancreática de frações de amido de milho de acordo com a granulometria. Eles descobriram que a taxa de hidrólise de amidos de milho ceroso, normal e alta amilose foi proporcional à superfície dos grânulos, o que pode estar intimamente relacionado com a adsorção da enzima na superfície do grânulo. Portanto, na cevada, a diferença de tamanho entre os grânulos de amidos tipo A (grandes e lenticulares) e tipo B (menores e irregulares) pode influenciar na cinética enzimática.

Li e colaboradores (2004) observaram em seu estudo sobre hidrólise enzimática de amido de cevada que, durante o tempo de hidrólise, o amido ceroso foi mais prontamente hidrolisado do que os amidos normais e de alta amilose.

Canais internos, que são características naturais de muitos grânulos de amido (HUBER; BEMILLER, 2000), podem criar locais preferenciais e áreas específicas na superfície dos grânulos e no interior para a difusão das enzimas e adsorção. Assim, a alta taxa de hidrólise inicial mostrada pelo amido pode ser, em parte, devido à presença de perfurações e canais internos (LI et al., 2001a). Assim, a morfologia de grânulos pode influenciar o grau de suscetibilidade dos amidos a hidrólise por amilases, inclusive podendo ser resistente a ação de certas enzimas.

A composição e concentração dos produtos de hidrólise também pode ter efeito inibitório sobre a taxa de hidrólise. Redução gradual da taxa de hidrólise pode ser causada em parte pela inibição, por oligossacarídeos, da atividade α -amilásica. No complexo oligossacarídeo-enzima, a razão molar entre oligossacarídeos e enzima influencia o equilíbrio de adsorção. O aumento de concentração, durante a amilólise, em maltose e maltotriose, em vez de glicose ou maltotetraose, influencia o equilíbrio de adsorção. No entanto, se amiloglicosidase é usada em combinação com uma amilase, a amiloglicosidase pode hidrolisar maltose e maltotriose em glicose e, assim, continuamente transformar os produtos da reação de um amido (PLANCHOT et al., 1995).

Hidrolisados enzimáticos de amido são produzidos industrialmente por reações de uma solução de amido dissolvido (até 40% [p / p]) (MARCHAL et al., 1999). Considerando que um xarope com 50 % de maltose é definido como xarope com alto teor de maltose e

é este que é obtido e comercializado, sugere-se que é possível obter xarope de alto teor de maltose utilizando concentração de 20 % do amido residual da extração de β -glucanas de cevada, pois através das respostas encontradas espera-se que este esteja próximo da composição do xarope de alto teor de maltose obtido comercialmente do milho, amplamente utilizado pela indústria de alimentos.

4.4 CONCLUSÃO

A caracterização da farinha de cevada demonstrou que esta é uma boa fonte de obtenção de β -glucanas e amido. A fração amido residual apresentou contaminação com outros componentes, principalmente com proteína.

Os resultados obtidos demonstraram que as variáveis açúcares redutores, dextrose equivalente, sólidos solúveis totais e eficiência da hidrólise, foram influenciadas linearmente pela concentração do substrato.

Considerando que a produção enzimática de xarope de maltose a partir do amido residual da extração de β -glucanas de cevada pode ser semelhante aos xaropes obtidos de amidos tradicionalmente utilizados na indústria de alimentos, como o amido de milho, é possível sugerir a utilização deste resíduo para a produção de xarope de maltose. Sendo que a melhor condição foi encontrada no substrato de 13%, com 40 minutos de hidrólise.

REFERÊNCIAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of AACC**. Edition 9, St Paul, 2000.

ATKIN, N. J.; ABEYSEKERA, R. M.; CHENG, S. L.; ROBARDS, A. W. An experimentally-based predictive model for the separation of amylopectin subunits during starch gelatinization. **Carbohydrate Polymers**, v.36, p. 173-192, 1998.

BERTOFT, E.; MANELIUS, R. A method for the study of the enzymatic hydrolysis of starch granules. **Carbohydrate Research**, v. 227, p. 269–283, 1992.

BHATTY, R. S. Laboratory and pilot plant extraction and purification of β -glucans from hull-less barley and oat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 22, p. 163-170, 1995.

BHATTY, R.S., ROSSNAGEL, B.G. Zero amylose lines of hull-less barley. **Cereal Chemistry**, v. 74, p. 190–191, 1997.

BLAZEK, J.; COPELAND, L. Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylase content. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 380-387, 2008.

BRENNAN C. S., CLEARY, L. J. The potential use of cereal (1/3, 1/4)- β -D-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 42, p. 1–13, 2005.

BOURDON, I.; YOKOYAMA, W.; DAVIS, P.; HUDSON, C.; BACKUS R.; RICHTER, D.; KNUCKLES, B.; SCHNEEMAN, B. O. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with β -glucan. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 55–63, 1999.

BURKUS, Z., & TEMELLI, F. Effect of extraction conditions on yield, composition and viscosity stability of barley β -glucan gum. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 805-809, 1998.

BURKUS, Z.; TEMELLI, F. Stabilization of emulsions and foams using barley β -glucan. **Food Research International**, v. 33, p. 27-33, 2000.

CAVALLERO, A.; EMPILLI, S.; BRIGHENTI, F.; STANCA, A. M. High (1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 4)- β -Glucan Barley Fractions in Bread Making and their Effects on Human Glycemic Response. **Journal of Cereal Science**, v. 36, p. 59–66, 2002.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. **Tecnologia, Usos e Potencialidades de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**, Fundação Cargill, São Paulo, 2003, p. 711.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C.
Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1527–1534, 2009.

DONGOWSKI G.; HUTH, M.; GEBHARDT, E.; FLAMME, W.
Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. **The Journal of Nutrition**, v. 132, p. 3704–3714, 2002.

DOKIC, P., JAKOVLJEVIC, J., DOKIC-BAUCAL, L.
Molecular characteristics of maltodextrins and rheological behaviour of diluted and concentrated solutions. **Colloids and Surfaces A**, v. 141, p. 435–440, 1998.

DOKIC-BAUCAL, L.; DOKIC, P.; JAKOVLJEVIC, J. Influence of different maltodextrins on properties of O/W emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 233–239, 2004.

EDUARDO, M. P. **Hidrólise enzimática de mandioca e puba para a obtenção de xarope de maltose**. 2002. Dissertação (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”) Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

FANNON, J.E.; BEMILLER, J.N. Structure of corn starch paste and granule remnants revealed by low-temperature scanning electron-microscopy after cryopreparation. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 456-460, 1992.

FRANCO, C. M. L.; PRETO, S. J. D.; CIACCO, C. F.; TAVARES, D. Q. Studies on the susceptibility of granular cassava and corn starches to enzymatic attack .2. Study of the granular structure of starch. **Starch-Starke**, v. 40, p. 29-32, 1988.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 116-120, 2003.

GAOUAR, O.; ZAKHIA, N.; AYMARD, C.; RIOS, G. M.
Production of maltose syrup by bioconversion of cassava starch in an

ultrafiltration reactor. **Industrial Crops and Products**, v. 7, p. 159–167, 1998.

GILBERT, G. A.; SPRAGG, S. P. Iodine Sorption: Blue Value. In Whistler, R. L. et al. **Methods in Carbohydrate Chemistry**, London: Academic Press, p. 168-169, 1964.

HOSENEY, R. C. **Principios de Ciencia y Tecnologia de los Cereales**. Zaragoza: Acribia, 1991.

HUBER, K. C.; BEMILLER, J. N. Channels of maize and sorghum starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 269–276, 2000.

IZYDORCZYK, M. S.; STORSLEY, J.; LABOSSIERE, D.; MACGREGOR, A. W.; ROSSNAGEL, B. G. Variation in total and soluble β -glucan content in hulless barley: effects of thermal, physical, and enzymic treatments. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, p. 982-989, 2000.

JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, p. 210–218, 2004.

KANDRA, L. α -Amylases of medical and industrial importance. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 666–667, p.487–498, 2003.

KIMURA, A; ROBYT, J. F. Reaction of enzymes with starch granules: kinetics and products of the reaction with glucoamylase. **Carbohydrate Research**, v. 277, p. 87-107, 1995.

KNUTSON, C. A.; KHOO, U.; CLUSKEY, J.E; INGLET, G.E. Variation in enzyme digestibility and gelatinization behavior of corn starch granule fractions. **Cereal Chemistry**, v. 59, p. 512-515, 1982.

KONSULA, Z; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Hydrolysis of starches by the action of an α -amylase from *Bacillus subtilis*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1745–1749, 2004.

LI, J. H.; VASANTHAN, T.; ROSSNAGEL, B.; HOOVER, R. Starch from hull-less barley: I. Granule morphology, composition and amylopectin structure. **Food Chemistry**, v. 74 p. 395–405, 2001a.

LI, J. H.; VASANTHAN, T.; ROSSNAGEL, B.; HOOVER, R. Starch from hull-less barley: II. Thermal, rheological and acid hydrolysis characteristics. **Food Chemistry**, v. 74, p. 407–415, 2001b.

LI, J.; KANEKO, T.; QIN, L.Q.; WANG, J.; WANG, Y. Effects of barley intake on glucose tolerance, lipid metabolism, and bowel function in women. **Nutrition**, v. 19, p. 926–929, 2003.

LI, J.H.; VASANTHAN, T; HOOVER, R.; ROSSNAGEL, B Starch from hull-less barley: V. In-vitro susceptibility of waxy, normal, and high-amylose starches towards hydrolysis by alpha-amylases and amyloglucosidase. **Food Chemistry**, v. 84, p. 621–632, 2004.

MACGREGOR, A. W.; FINCHER, G. B. Carbohydrates of the barley grain In: MacGREGOR, A. W.; BHATTY, R. S. **Barley: Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc. p. 73-130, 1993.

MARCHAL, L. M.; BEEFTINK, H. H.; TRAMPER, J. Towards a rational design of commercial maltodextrins. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 345-355, 1999.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-431, 1959.

MOORE, G. P. **Amido de milho e mandioca na produção de maltodextrinas**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

MOORE, G. P.; DO CANTO, L. R. ; SOLDI, V. ; AMANTE, E. R. Cassava and corn starch to maltodextrin production. **Química Nova**, v. 28, p. 596-600, 2005.

NIELSEN, J. E.; BORCHERT, T. V. Protein engineering of bacterial α -amylases. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1543, p. 253–274, 2000.

NIGAM, P.; SINGH, D. Enzymes and microbial systems involved in starch processing. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 770–778, 1995.

NOVOZYMES Latin American Ltda; Enzyme Process Division, ficha técnica: TERMAMYL 12 L, 2011.

ODES, H. S.; LAZOVSKI, H.; STERN, I.; MADAR, Z. Double-blind trial of a high dietary fiber, mixed grain cereal in patients with chronic constipation and hyperlipidemia. **Nutrition Research**, v. 13, p. 979–985, 1993.

PLANCHOT, V.; COLONNA, P.; GALLANT, D. J.; BOUCHET, B. Extensive degradation of native starch granules by alpha-amylase from *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Cereal Science**, v. 21, p. 163–171, 1995.

PONTH, J.; LOW, N.H. Glucose syrup production from Indonesian palm and cassava starch. **Food Research International**, v. 28, p. 379–385, 1995.

SOARES, R. M. D. **Caracterização parcial de amido em cultivares brasileiros de cevada (*Hordeum vulgare* L.)**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

SRICHUWONG, S.; ISONO, N.; MISHIMA T.; HISAMATSU, M. Structure of lintnerized starch is related to X-ray diffraction pattern and susceptibility to acid and enzyme hydrolysis of starch granules. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, p. 115–121, 2005.

TEMELLI, F. Extraction and functional properties of barley β -glucan as affected by temperature and pH. **Journal of food science**, v. 62, p. 1194-1201, 1997.

YOU, S.; IZYDORCZYK, M. S. Molecular characteristics of barley starches with variable amylose content. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 33-42, 2002.

WANG, Y. J.; WANG, L. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato, and rice starches. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 296-304, 2000.

WOO, G. J.; MCCORD, D., Bioconversion of starches into maltotetraose using *Pseudomonas stutzeri* maltotetraohydrolase in a membrane recycle bioreactor: effect of multiple enzyme systems and mass balance study. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 16, p. 1016-1020, 1994.

WOOD, P. J.; SIDDIQUI, I. R.; PATON, D. Extraction of high-viscosity gums from oats. **Cereal Chemistry**, v.55, p. 1038-1049, 1978.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram extraídas β -glucanas da cevada e xarope de maltose foi produzido a partir do amido residual da extração.

Foi utilizado o método úmido sem degradação do amido, ou seja, sem utilização de enzimas amilolíticas.

A matéria-prima utilizada no estudo apresentou composição química adequada para a extração de β -glucanas com aproveitamento do amido residual, por conter elevadas quantidades destes constituintes e baixo teor de lipídeos, o que facilita a extração.

A extração de β -glucanas e amido da cevada foi influenciada pela temperatura e pelo pH do processo, respectivamente.

A caracterização química dos componentes extraídos mostrou concentração superior a 50% para ambos. A fração concentrada de β -glucanas apresentou impurezas como amido e proteínas, acarretados pelo método de extração.

As características reológicas das β -glucanas extraídas apresentaram comportamento semelhante as β -glucanas comerciais, tendo sua viscosidade reduzida com a temperatura.

A espectroscopia na região do infravermelho mostrou espectro semelhante ao das β -glucanas comerciais e confirmou a contaminação com amido, caracterizada pelo forte pico no comprimento de onda que caracteriza ligações referentes a este composto.

A microscopia eletrônica de varredura também mostrou semelhança entre as β -glucanas extraídas e comerciais, caracterizada por um produto esponjoso.

A caracterização do amido residual mostrou características de viscosidade (RVA) semelhantes ao amido de milho, que é disponibilizado atualmente no mercado, e a espectroscopia do infravermelho foi característica de amido.

Através da microscopia eletrônica de varredura foi possível visualizar grânulos de amido intactos, tipo A e tipo B.

A produção do hidrolisado de amido apresentou alta produção de xarope de maltose e teve influencia da concentração de substrato, sendo que a influência linear indica que a taxa de hidrólise para a produção de maltose diminui com o aumento da concentração de substrato.

O teor de sólidos solúveis presentes no xarope de maltose está de acordo com a concentração inicial de amido utilizada no experimento.

Sugere-se a avaliação de combinações enzimáticas para potencializar a produção xarope de maltose, bem como a extração de β -glucanas com a utilização de enzimas amilolíticas.

A caracterização mais aprofundada das extraídas também é sugerida, bem como sua interação com os demais constituintes de formulações alimentares, visando prever seu comportamento na matriz alimentícia.

6 ANEXOS

6.1 ANEXO A - Fluxograma básico de moagem da farinha de cevada (SL Alimentos).



Figura 1 Fluxograma básico de moagem da farinha de cevada (SL Alimentos).

6.2 ANEXO B - Avaliação preliminar de extração de β -glucanas de cevada.

Um teste preliminar de extração foi conduzido para avaliar a necessidade de adequação da metodologia e das condições do laboratório.

A amostra (50 g) foi misturada a 150 mL de água destilada. A amostra permaneceu em banho Maria a 53 °C por 10 minutos sob agitação. Mais 150 mL de água destilada foram adicionado à amostra. NaOH 0,275 N foi adicionado à solução até ajustar o pH entre 9,5 e 10. A mistura foi mantida em banho Maria a 53 °C sob agitação e posteriormente centrifugada a 5600 rpm, durante 10 minutos. O sobrenadante foi coletado em béquer e o resíduo lavado 2 vezes com água destilada e centrifugado a 5600 rpm por 10 minutos. O resíduo da centrifugação foi seco em estufa, a 45±2 °C, e os sobrenadantes de todas as lavagens misturados. Em seguida, foi adicionado HCl 0,561 N até que o pH da solução atingisse 4,5. A mistura foi agitada por 15 minutos e mantida a 4 °C *overnight*. A mistura foi novamente centrifugada por 10 minutos a 5600 rpm. O resíduo da centrifugação foi seco em estufa com circulação forçada de ar, a 45-50 °C. Ao sobrenadante da centrifugação foi adicionado álcool etílico p.a. na proporção 1:2 e a mistura foi agitada em banho Maria por 10 minutos a 50 °C sob agitação. A mistura foi mantida *overnight* a 4 °C e, após, filtrada. O resíduo foi seco a 50 °C com circulação forçada de ar e moído.

Os resultados demonstram que, após a separação das frações de amido e β -glucanas da cevada, houve aumento significativo tanto no teor de β -glucanas quanto no teor de amido nas frações extraídas (Tabela 1).

Tabela 1 Teor de β -glucanas e amido da farinha de cevada e dos produtos isolados da farinha.

	Amido (%)	β -glucanas (%)
Farinha	58,07±2,49 ^b	4,74±0,06 ^b
Isolados	72,58±1,50 ^a	11,21±1,11 ^a

Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05); os resultados são média ± desvio padrão.

A microscopia eletrônica de varredura da fração de amido mostrou a estrutura do grânulo claramente intacta, diferenciando

grânulos A e B. No entanto, alguns restos da proteína da matriz e parede celular puderam ser observados (Figura 1A). A microscopia eletrônica de varredura da fração extraída de β -glucanas demonstrou aglomerados compactos, sem definição da estrutura (Figura 1B).

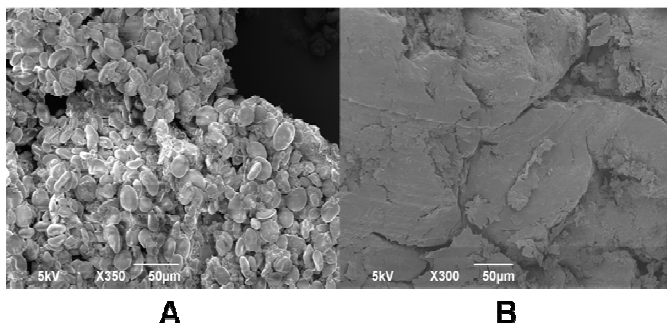


Figura 1 Microscopia Eletrônica de varredura do amido (A) e β -glucanas (B) extraídos da cevada.

Portanto, os resultados da avaliação preliminar da extração demonstraram que, apesar de não ter havido degradação estrutural do amido extraído da cevada e do aumento significativo dos dois compostos extraídos, o método de extração deve ser aperfeiçoado para que o teor de β -glucanas final seja, no mínimo, 50 % da composição desta fração e possui estrutura definida.

6. 3 ANEXO C - Avaliação do tempo e da velocidade da centrifugação de extração de β -glucanas de cevada

O tempo e a velocidade de centrifugação foram avaliados para a adequação da metodologia às condições do laboratório.

A amostra de farinha de cevada (50 g) foi misturada a 500 mL de água destilada, o pH da solução foi ajustado para 8 usando carbonato de sódio (20 % p/v), em seguida a amostra foi aquecida em banho maria durante 30 minutos à temperatura de 55 °C sob agitação. A solução foi centrifugada a 4000 RPM durante 30 e 60 minutos e a 11000 RPM durante 30 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C. O resíduo foi removido e o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,5 com HCl 2 M e centrifugado novamente a 4000 RPM durante 30 minutos. O resíduo foi removido e ao sobrenadante foi adicionado igual volume de etanol p.a. A solução permaneceu *overnight* a 4 °C, após foi centrifugada a 3500 RPM durante 10 minutos. O precipitado foi recuperado e ressuspenso em etanol p.a. Em seguida, foi filtrado, lavado com etanol e seco em estufa com circulação forçada de ar durante 1,5 horas. O extrato seco permaneceu em dessecador durante 24 horas, depois foi pulverizado com auxílio de nitrogênio líquido.

De acordo com os resultados, após o processo de extração, houve aumento significativo no teor de β -glucanas para todas as combinações de tempo e velocidade de centrifugação, o teor de β -glucanas após a extração utilizando a combinação 60min/4000rpm foi 61,33 %, significativamente superior às combinações 30min/11000rpm e 30min/4000rpm, 58,37 % e 57,56 %, respectivamente (Tabela 1).

Assim, para as combinações estudadas, somente o tempo de centrifugação interfere significativamente na eficiência da extração de β -glucanas, não havendo influencia significativa da velocidade de centrifugação.

O teor de amido aumentou significativamente após a extração. Porém, não houve diferença significativa no teor de amido em nenhuma das combinações tempo/velocidade de centrifugação (Tabela 1).

Tabela 1 Avaliação do tempo e velocidade de centrifugação

Amostra	B-glucanas	Amido
Antes da extração	4,75±0,0586 ^c	58,07±2,49 ^b
60min/4000rpm	61,33±1,485 ^a	68,85±0,015 ^a
30min/11000rpm	58,37±0,405 ^b	68,91±0,660 ^a
30min/4000rpm	57,56±0,080 ^b	67,83±0,435 ^a

Valores seguidos de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p<0,05$); os resultados são média \pm desvio padrão.